UNIVERSITE PARIS VAL DE MARNE
FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL

ANNEE 1972 , N° 30

THESE
POUR LE
DOCTORAT EN MEDECINE

(DIPLOME D'ETAT)

PAR

THIEBLEMONT Manuella

Née le 16 Juin 1946 à CRETEIL (94)

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE :

L'EXPERIMENTATION ANIMALE DANS L'ETUDE DE LA PATHOLOGIE RESPIRATOIRE DU TABAC :OBJECTIFS ET METHODOLOGIE.

Président :Monsieur le Professeur RAPIN.

UNIVERSITE DE PARIS - VAL DE MARNE

FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL

ANNEE 1972

THESE

pour

LE DOCTORAT en MEDECINE

(diplôme d'Etat)

par

THIEBLEMONT Manuella

Née le 16 Juin 1946 à CRETEIL (94)

Présentée et soutenue publiquement le :

L'EXPERIMENTATION ANIMALE DANS L'ETUDE DE LA PATHOLOGIE RESPIRATOIRE DU TABAC : OBJECTIFS ET METHODOLOGIE.

Président : Monsieur le Professeur RAPIN.

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Docteur Manuella THIEBLEMONT

L'EXPERIMENTATION ANIMALE DANS L'ETUDE DE LA PATHOLOGIE RESPIRATOIRE DU TABAC : OBJECTIFS ET METHODOLOGIE.

-:-

A MES GRANDS-PARENTS

A MES PARENTS

En humble témoignage de mon affection et de ma reconnaissance.

A MON COUSIN, LE DOCTEUR P. DIEUDONNE

Il m'a aidée et soutenue de son affection et de son expérience tout au long de mes études.

Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance.

A MES S'DEURS

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Doyen M. RAPIN

Il nous a fait un très grand honneur en acceptant la présidence du jury de notre thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de notre respectueuse considération.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CHRETIEN

Il nous a fait l'immense honneur de nous confier ce travail. Il a bien voulu nous honorer de ses précieux conseils. Nous ne saurions lui en témoigner trop de reconnaissance.

Qu'il soit assuré de notre très respectueuse gratitude.

A MONSIEUR LE DOCTEUR HIRSCH

Par ses conseils éclairés, il nous a permis l'élaboration de ce travail. Il n'a pas hésité à nous consacrer une partie de son temps.

Nous lui en sommes infiniment reconnaissants.

A MONSIEUR LE DOCTEUR GRIMBERG

Nous tenons ici à le remercier tout spécialement pour l'aide précieuse qu'il nous a constamment apportée.

A MESSIEURS LES DOCTEURS

CHOUROULINKOV

[illegible]

LATTMA

ZIVY

dont les interventions nous ont permis d'effectuer ce travail.

A MESSIEURS LES DOCTEURS

CH. BLATRIX

ISRAEL

Dont l'accueil bienveillant dans leur service nous a permis de bénéficier de leur enseignement.

Nous les assurons de notre sincère reconnaissance.

PLAN DU TRAVAIL

I - INTRODUCTION (p.14)

A - Etudes expérimentales - Historique

B - Etudes épidémiologiques

1 - Cancer broncho-pulmonaire

2 - Bronchopneumopathies chroniques

II - PROTOCOLES EXPERIMENTAUX (p.23)

A - Composition de la fumée

1 - Formation de la fumée

2 - Nature des produits formés

3 - Analyse de la fumée

4 - Etude de la distribution de la fumée dans l'appareil respiratoire

B - Choix de l'animal d'expérience

1 - Importance de la structure anatomique

2 - Susceptibilité aux infections pulmonaires

3 - Incidence des tumeurs pulmonaires spontanées

4 - Tableau récapitulatif des principales espèces utilisées

C - Production de la fumée et de ses éléments

1 - Fumée totale

2 - Fumée filtrée

3 - Constituants de la fumée

D - Administration de la fumée ou de ses éléments à l'animal d'expérience

1 - Méthodes - Rappel de l'inhalation chez l'homme

2 - Inhalation

a - chambre d'inhalation

b - inhalation directe

c - conditions essentielles à observer

3 - Autres méthodes

a - introduction intratrachéale par badigeonnage bronchique

b - instillation intratrachéale

c - injection transpariétale

d - injection après thoracotomie

4 - Système in vitro

III - ETUDE DES RESULTATS EXPERIMENTAUX (p. 91)

A - Altérations fonctionnelles

1 - Fonction ventilatoire

2 - Vascularisation pulmonaire

3 - Echanges gazeux

4 - Tension superficielle

5 - Rétention des éléments de la fumée

6 - Activité métabolique

7 - Activité muco-ciliaire

8 - Activité macrophagique

9 - Epuration pulmonaire

B - Altérations lésionnelles

1 - Lésions macroscopiques

2 - Lésions microcospiques

C - Tabac et cancer broncho-pulmonaire

1 - Action cancérigène de la fumée

2 - Action cancérigène du condensat

3 - Action cancérigène des divers éléments

4 - Mécanisme d'action

5 - Action co-carcinogène du tabac

6 - Réduction de l'effet cancérigène du tabac

IV - CONCLUSION (p.214)

V - RECENSEMENT DES PRINCIPAUX LABORATOIRES ETRANGERS (p.219)

VI - RECENSEMENT DES PRINCIPAUX LABORATOIRES FRANCAIS (p. 224)

VII - BIBLIOGRAPHIE (p. 225)

-:-

I - INTRODUCTION

Depuis son introduction en Europe, le tabac fut soumis à des jugements contradictoires :

- on lui prêta, dès l'origine, un certain nombre de pouvoirs magiques, ainsi que des vertus médicinales, et son usage se répandit rapidement en Europe Occidentale, où l'on en usa de différentes manières : c'est ainsi qu'on a pu le mâcher, le priser et surtout le fumer : par l'intermédiaire de pipe, ou directement grâce aux cigares et surtout aux cigarettes.

- mais ses effets néfastes furent bientôt soupçonnés, s'ils ne furent avoués ouvertement : un certain nombre de troubles (toux, expectoration, bronchite, "irritation bronchique"), furent attribués à son usage excessif; surtout, l'augmentation considérable du nombre des cancers broncho-pulmonaires, allant de pair avec la consommation croissante du tabac, la notion d'un tabagisme chez la plupart des sujets porteurs d'un carcinome bronchique, amenèrent à le considérer comme un facteur primordial dans la genèse d'une telle maladie.

Pour accréditer sa responsabilité, implicite et pressentie par beaucoup, dans les affections respiratoires (broncho-pneumopathies chroniques, cancer broncho-pulmonaire), il fut nécessaire :

1 - d'exécuter de très nombreuses études expérimentales chez l'animal,

2 - de procéder à des études épidémiologiques, études rétrospectives, études prospectives.

A - Etudes expérimentales - Historique.

Etant donné leur relative facilité d'exécution, de nombreux travaux rapportent la production de tumeurs cutanées chez l'animal, par application de produits de tabac, en particulier sous forme de "goudron". C'est ainsi que WYNDER & Coll., en 1953, 1955, 1956 (392 - 393 - 394 - 405), GUERIN & CUZIN, 1957 (148), cancérisent l'épiderme de souris. Chez le lapin, des tumeurs résultèrent du badigeonnage quotidien de l'oreille par des "goudrons" de diverses sortes de tabac : ROFFO 1938, 1939, 1943 (319 - 320 - 321), FLORY 1941 (132).

Lorsque ces expérimentations eurent affirmé la responsabilité indiscutable du tabac, le problème fut de déterminer les constituants nocifs entrant dans la composition de la fumée. C'est ainsi que des substances connues pour leurs propriétés cancérigènes furent isolées du condensat de fumée : COOPER & LINDSEY 1955 (71), WRIGHT & WYNDER, 1955 (389), BONNET & NEUKOMM 1957 (45). Des hydrocarbures polycycliques aromatiques furent isolés : le 3-4 benzopyrène, en particulier; on le montra capable de provoquer des cancers expérimentaux.

Il restait cependant à prouver que la fumée de tabac était aussi capable de cancériser l'arbre trachéo-bronchique et de nombreuses expériences ont cherché à produire des lésions néoplasiques.

Les chercheurs se sont alors heurtés à de nombreuses difficultés, en particulier :

- choix de l'espèce animale
- incidence des tumeurs pulmonaires spontanées
- mode d'administration de la substance.

Les premières expériences d'inhalation de fumée de cigarette furent effectuées chez la souris par CAMPBELL en 1936 (56) et LORENZ & Coll. en 1943 (248).

Puis, ESSENBERG 1952, 1954, 1955 (119 - 120 - 122) expose des souris en chambre d'inhalation. Cette méthode fut reprise par la suite, avec quelques modifications, par divers auteurs :

- MULBOCK 1955 (273), KOMCZYMSKI 1958 (205), LEUCHTENBERGER & Coll. 1956, 1960 (239 - 241), MAHRBURG 1958 (257), OTTO 1963 (294), HARRIS & NEGRONI 1966 (165) chez la souris, DONTENWILL & MOHR 1962 (104) chez le hamster, HOLLAND & Coll. 1958 (182) chez le lapin.

Enfin, plus récemment, AUERBACH & Coll. 1970 (16) utilisèrent un dispositif avec trachéotomie, permettant à des chiens de fumer par aspiration volontaire.

A côté de ces méthodes employant la fumée, on relève des techniques utilisant le "goudron" :

- introduction intratrachéale : DELLA-PORTA 1958 (97), RIGDON 1960 (314), KLEIN 1962 (203), DONTENWILL & MOHR 1962 (104),

- injection transpariétale : BLACKLOCK 1957, 1961 (40 - 41), KOURILSKY, HAPPERT 1964 (209),

- badigeonnage local trachéo-bronchique : HOCKEY & Coll. 1958 (316), 1962 (317).

Les expérimentations montrèrent, à côté de l'effet cancérigène, des modifications lésionnelles atteignant l'épithélium bronchique et le parenchyme : métaplasie, hyperplasie,

observées en particulier par LEUCHTENBERGER 1958, 1960 (239 - 241), [illegible] & Coll. 1962, 1966 (317 - 318), WYNDER & Coll. 1966 (406), AUERBACH & HAMMOND 1967, 1970 (14 - 16). Des aspects de "bronchite" furent décrits chez la souris soumise à la fumée de cigarette, par LEUCHTENBERGER 1958 (239) tandis que d'autres auteurs rapportèrent des lésions histologiques "d'emphysème" : HOLLAND & Coll. 1963 (179), HERNANDEZ & Coll. 1966 (167), AUERBACH & Coll. 1967 (15), de "sclérose pulmonaire" : LUPU & VELICAN 1957 (251).

Les recherches ont aussi porté sur des altérations fonctionnelles produites par le tabac, compte tenu des lésions pathologiques, au niveau des bronches et des alvéoles.

Les modifications de la motricité broncho-pulmonaire furent étudiées chez l'animal par LOOMIS 1956 (247), CARSON & Coll. 1965 (59), SAMANECK & AVIADO 1965 (333 - 334 - 335), AVIADO & Coll. 1965, 1966 (23 - 24), GUILLERM & Coll. 1967 (155). Ces auteurs montrèrent l'augmentation des résistances bronchiques et tentèrent d'en préciser le mécanisme.

LUPU & VELICAN 1957 (251), SAINDELLE & Coll. 1968 (332), DOUGLAS & Coll. 1969 (107), étudièrent, chez le cobaye, la décharge histaminique produite dans le tissu pulmonaire sous l'influence du tabac.

De nombreux travaux ont porté sur la ciliotoxicité du tabac, ciliotoxicité observée dès 1937 (262) et 1940 (263), par MENDENHALL & SHREEVE, sur la muqueuse d'une trachée de veau. Ces études furent ensuite reprises et confirmées par RAKIETEN & Coll. 1952 (311),(in vitro sur diverses préparations), par HILDING 1956 (171), (sur les bovins), DALHAMN

1959, 1964, 1966 (74 - 77 - 78), KENSLER & BATTISTA 1963, 1966 (198 - 200) en France, par GUILLERM & Coll. 1961 (151).

L'augmentation de la sécrétion muqueuse, autre trouble fonctionnel, ayant une importance essentielle dans la défense du poumon contre les infections, a également été appréciée chez l'animal soumis à l'exposition de fumée : MELLORS 1958 (261), LAMB & Coll. 1969 (217), BATTISTA & KENSLER 1970 (34).

La cytotoxicité directe du tabac, agissant par inhibition de la fonction phagocytaire des macrophages, a été démontrée in vitro par GREEN & CAROLIN 1967 (142), ou in vivo par GREEN 1969 (141).

D'autre part, MEYER & CROSS 1971 (264) montrèrent que les macrophages, lorsque leur capacité phagocytaire est dépassée, sont l'objet d'une cytolyse. Des enzymes intra-cellulaires sont alors libérées, pouvant être à l'origine de réactions fibrosantes du parenchyme pulmonaire.

LAURENZI & Coll. 1963, 1965 (231 - 229), étudièrent plus particulièrement l'effet du tabac sur les phénomènes d'épuration pulmonaire.

Il est à noter que des études ont aussi porté sur l'homme : DUBOIS & Coll. 1956 (108), MOTLEY & KUZMAN 1958 (272), NADEL & COMROE 1961 (277), LOVEJOY & DAUTREBANDE 1963 (249) étudièrent l'effet immédiat de l'inhalation d'une ou plusieurs cigarettes sur la fonction ventilatoire.

B - <u>Etudes épidémiologiques</u>.

S'il est difficile d'extrapoler à l'homme les conclu-

ANNEES	FRANCE
1932	570
1935	530
1940	610
1942	360
1944	290
1945	430
1950	930
1955	1170
1967	1340

Quantités de cigarettes consommées par adulte et par an, en France, de 1932 à 1967.

(d'après FREOUR & Coll. (135)

TABLEAU I

Sujets continuant à fumer	Ex-fumeurs depuis				Non-fumeurs
	Moins de 5 ans	5-9 ans	10-19 ans	20 ans et plus	
128	67	49	18	19	7

Mortalité par cancer du poumon pour des ex-fumeurs, en fonction du temps d'arrêt, d'après DOLL & HILL (103).

TABLEAU II

Estimation de l'espérance de vie (en années) à différents âges pour des sujets masculins aux Etats-Unis, en fonction de la consommation quotidienne de tabac.

D'après HAMMOND (E.C.) (161)

Age	Sujets n'ayant jamais fumé de façon régulière	Nombre de cigarettes fumées par jour			
		1 - 9	10 - 19	20 - 39	40 et plus
25 ans	48,6	44,0	43,1	42,4	40,3
30	43,9	39,3	38,4	37,8	35,8
35	39,2	34,7	33,8	33,2	31,3
40	34,5	30,2	29,3	28,7	26,9
45	30,0	25,9	25,0	24,4	23,0
50	25,6	21,8	21,0	20,5	19,3
55	21,4	17,9	17,4	17,0	16,0
60	17,6	14,5	14,1	13,7	13,2
65	14,1	11,3	11,2	11,0	10,7

TABLEAU III

Diminution de l'espérance de vie à différents âges chez les fumeurs en comparaison avec les non fumeurs : 1) en année - 2) en pourcentage par rapport à l'espérance de vie des non fumeurs.

D'après HAMMOND (E.C.) ([illegible])

	Nombre de cigarettes fumées par jour							
	1 - 9		10 - 19		20 - 39		40 et plus	
	Années perdues	%	Années perdues	%	Années perdues	%	Années perdues	%
25 ans	4,6	9,5	5,5	11,2	6,2	12,8	8,3	17,1
30	4,6	10,5	5,5	12,5	6,1	13,5	8,1	18,5
35	4,5	11,5	5,4	13,8	6,0	15,3	7,9	20,2
40	4,3	12,5	5,2	15,1	5,8	16,8	7,6	22,0
45	4,1	13,7	5,0	16,7	5,6	18,7	7,0	23,3
50	3,8	14,8	4,6	18,0	5,1	19,9	6,3	24,6
55	3,5	16,4	4,0	18,7	4,4	20,6	5,4	25,2
60	3,1	17,6	3,5	19,9	3,9	[illegible]	4,4	25,0
65	2,8	19,9	2,9	20,6	3,1	[illegible]	3,4	24,1

TABLEAU III'

sions de l'expérimentation animale, les études épidémiologiques tant rétrospectives que prospectives ne permettent plus de douter de la nocivité du tabac (131).

Dans tous les pays occidentaux, la consommation moyenne de tabac a considérablement augmenté durant ces trente dernières années (tableau I). En France, la consommation annuelle de cigarettes est passée de 19 milliards en 1938 à 65 milliards en 1969 (chiffres du SEITA). Aux U.S.A., la consommation atteignait 542 milliards de cigarettes par an en 1966.

De vastes enquêtes sur la consommation de tabac et la mortalité ont été effectuées aux U.S.A.. Il en ressort que celle-ci croît avec l'augmentation du tabagisme : le tabac diminue l'espérance de vie.

HAMMOND (161), d'après une étude portant sur plus de 1 million de sujets, estime l'espérance de vie des fumeurs selon leur âge et leur consommation journalière de cigarettes (tableau III et III'). La consommation de 2 paquets de cigarettes ou plus par jour, à 25 ans, diminuera l'espérance de vie de 8,3 ans par rapport aux non-fumeurs.

1 - <u>Cancer broncho-pulmonaire</u>.

La fréquence des cancers bronchiques n'a cessé de s'accroître depuis le début du siècle, et surtout depuis une vingtaine d'années.

Entre 1955 et 1965, le taux de mortalité par cancer bronchique chez l'homme est passé de 20,4 à 28,4 pour 100 000 en France. La prédominance masculine est nette, mais on a pu

constater chez les femmes, qui fument de plus en plus, une augmentation du nombre de cancers broncho-pulmonaires.

Il n'est plus à souligner l'intérêt des enquêtes épidémiologiques effectuées, dont les plus importantes parmi les enquêtes prospectives, sont représentées par celles de HAMMOND & HORN, aux Etats-Unis (163 - 164) : 187 783 hommes de plus de 40 ans, classés en fumeurs et non fumeurs, furent suivis. Parmi les 11 870 sujets décédés 3 ans après le début de l'étude, 448 l'étaient par cancer du poumon, parmi lesquels se trouvaient 433 fumeurs.

DOLL & HILL (102 - 103, a, b) débutèrent une enquête en 1951, portant sur près de 40 000 médecins anglais, de plus de 35 ans, étudiant leur consommation de tabac. Au bout de 29 mois, ils relevèrent 789 décès, dont 36 par cancer broncho-pulmonaire. La répartition se faisait de la façon suivante :

- 25 chez des fumeurs de cigarettes,
- 4 chez des fumeurs de pipe,
- 7 chez des fumeurs de pipe et de cigarettes,
- aucun chez les non-fumeurs.

Des enquêtes rétrospectives furent aussi effectuées. DOLL & HILL (101), constatèrent que, sur 1 357 hommes porteurs d'un cancer broncho-pulmonaire, 7, soit 0,5 % n'ont jamais fumé; pour les femmes, 40 sur 108, soit 37 % ne fument pas. 25 % des hommes porteurs d'un carcinome bronchique avaient fumé en moyenne 25 cigarettes par jour ou plus (ou l'équivalent en pipe).

En France, SCHWARTZ & DENOIX (98 - 338 - 339) ont réalisé une enquête détaillée portant sur 602 malades atteints

de carcinome bronchique. Ils définirent le sujet porteur d'un cancer du poumon, non pas seulement comme un grand fumeur, mais comme un type particulier de grand fumeur.

Ceci amène à remarquer que les différentes enquêtes effectuées ont aussi permis de préciser les facteurs intervenant dans le développement du cancer bronchique :

- les habitudes tabagiques : la forme sous laquelle le tabac est fumé (cigarettes - pipes - cigares).

D'après les travaux de DOLL & HILL (102), HAMMOND & HORN (164), DENOIX, SCHWARTZ & ANGUERA (98), il apparaît que le rsique cancérigène encouru est plus important pour les fumeurs de cigarettes (3 fois plus environ que pour les fumeurs de pipe). En effet, le fumeur de cigarettes inhale la fumée, contrairement aux fumeurs de pipe et/ou de cigares.

- la consommation de tabac : consommation quotidienne, âge de début, durée du tabagisme. On a pu apprécier l'abaissement du taux de mortalité par cancer broncho-pulmonaire après arrêt de l'usage de la cigarette (en particulier DOLL & HILL (103) (tableau II).

- le sexe : la femme fume moins que l'homme, mais elle fume de plus en plus, ce qui laisse prévoir chez elle aussi une fréquence considérablement accrue du cancer bronchique dans les 20 prochaines années.

HAMMOND (160) exprime dans 2 tableaux (IV et V) la mortalité chez l'homme et la femme, par cancer bronchique, en fonction de l'âge de début du tabagisme (pour les cigarettes), le degré d'inhalation, le nombre de cigarettes consommées par jour.

Nombre de cigarettes/j Profondeur de l'inhalation Age du début du tabagisme	35 à 54 ans		55 à 69 ans		70 à 84 ans		35 à 84 ans	
	Nombre de décès	Proportion pour 100.000	Nombre de décès	Proportion pour 100.000	Nombre de décès	Proportion pour 100.000	Nombre de décès	Proportion pour 100.000
Nombre de cigarettes/j								
1 à 9	9	38	12	68	5	134	26	56
10 à 19	15	24	57	168	10	243	82	90
20 à 39	138	58	216	264	27	446	381	159
40 et plus	26	47	50	334	6	754	82	201
Profondeur de l'inhalation								
nulle ou légère	19	29	87	203	14	193	120	102
modérée	114	52	177	224	20	401	311	138
profonde	55	55	73	266	13	638	141	178
Age de début du tabagisme :								
25 ans ou plus	5	17	12	65	3	85	20	39
20 à 24 ans	31	36	72	212	7	306	110	118
15 à 19 ans	112	54	176	250	27	490	315	155
moins de 15 ans	35	79	57	302	9	424	101	183
sujets n'ayant jamais fumé régulièrement	11	6	27	19	11	25	49	12

	Rapport mortalité par cancer du poumon chez fumeurs et non fumeurs			
Nombre de cigarettes/j.				
1 à 9	6,17	3,53	5,32	4,60
10 à 19	3,90	8,77	9,62	7,48
20 à 39	9,37	13,82	17,62	13,14
40 et plus	7,67	17,47	29,84	16,61
Profondeur de l'inhalation :				
nulle ou légère	4,75	10,60	1,65	8,42
modérée	8,48	11,72	15,88	11,45
profonde	9,00	13,93	25,26	14,31
Age de début du tabagisme :				
25 ans ou plus	2,77	3,39	3,38	3,21
20 à 24 ans	5,83	11,11	12,11	9,72
15 à 19 ans	8,71	13,06	19,37	12,81
moins de 15 ans	12,8	15,81	16,76	15,10

Mortalité par cancer du poumon chez l'homme en fonction du nombre de cigarettes fumées par jour, du degré de l'inhalation et de l'âge de début du tabagisme

D'après HAMMOND (E.C.) (160)

TABLEAU IV

de de consommation tabagique	40 à 54 ans		55 à 74 ans		40 à 74 ans	
	Nombre de décès	Proportions	Nombre de décès	Proportions	Nombre de décès	Proportions
jets n'ayant jamais fumé	25	4	77	12	102	7
ulièrement ion d'un tabagisme	48	11	33	23	81	16
Sujets fumant de façon régulière						
mbre de cigarettes/j.						
1 à 19	15	8	5	7	20	8
20 et plus	28	17	22	59	50	35
profondeur de l'inhalation						
nulle ou légère	16	13	9	13	25	13
modérée ou profonde	27	11	18	48	45	27
e du début du tabagisme						
25 ans ou plus	7	6	16	21	23	12
moins de 25 ans	35	14	11	43	46	27
Mortalité par cancer du poumon (femmes) par rapport aux non fumeuses						
ombre de cigarettes/j.						
1 à 19		2,00		0,62		1,06
20 et plus		4,43		4,91		4,76
profondeur de l'inhalation						
nulle ou légère		3,33		1,12		1,78
modérée ou profonde		2,90		4,04		3,70
e du début du tabagisme						
25 ou plus		1,55		1,76		1,70
moins de 25 ans		3,78		3,60		3,65

Mortalité par cancer du poumon chez la femme en fonction des habitudes tabagiques.

D'après HAMMOND (E. C.) (160)

TABLEAU V

2 - Broncho-pneumopathies chroniques.

La maladie broncho-pulmonaire chronique est en progression constante et la mortalité par emphysème et/ou bronchite chronique est alarmante : elle croît plus vite que la mortalité par cancer bronchique (fig. 1).

Aux Etats-Unis, la mortalité atteignait 3 000 pour 100 000 en 1950, elle est de plus de 20 000 en 1964 (tableau VI)

En Grande-Bretagne, FLETCHER (130) considère que près de 10 % des décès observés sur l'ensemble de la population sont dus à des broncho-pneumopathies chroniques.

En France, d'après les statistiques de l'I.N.S.E.R.M. les décès par bronchite chronique représenteraient 3 à 7 % de l'ensemble des décès (pour l'année 1968).

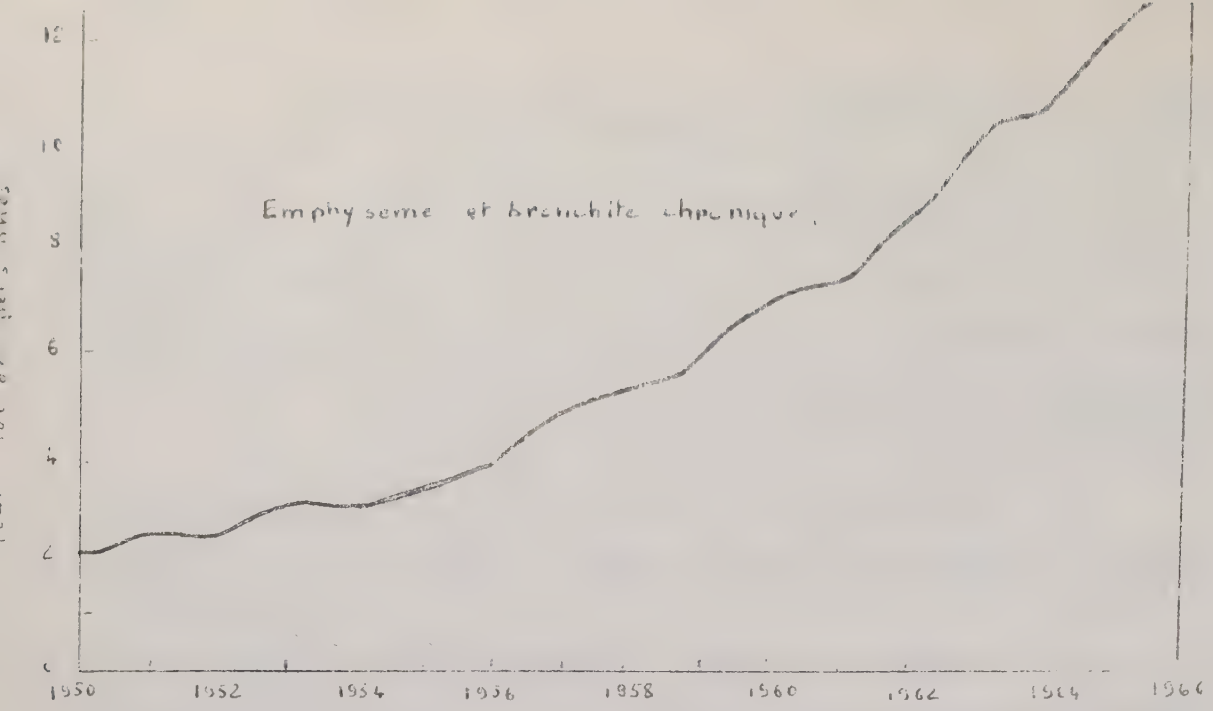
Il est donc important de connaître le rôle du tabac dans ces maladies.

Or, toutes les enquêtes épidémiologiques s'accordent pour montrer que le tabagisme est le facteur étiologique le plus important dans la genèse de la bronchite chronique.

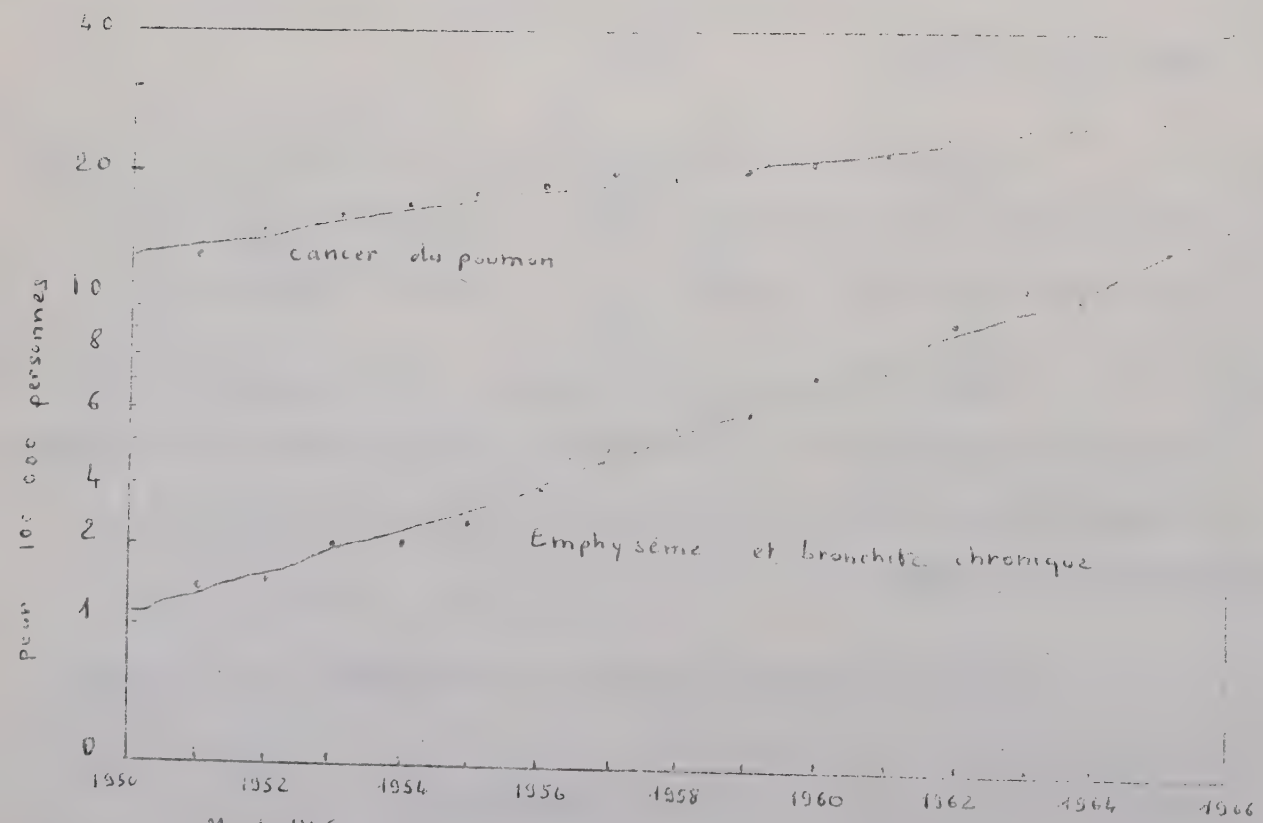
Ces affections sont toujours plus fréquentes chez les fumeurs que chez les non-fumeurs, l'exposition aux polluants atmosphériques et/ou aux facteurs professionnels étant, par ailleurs, la même.

Chez les grands fumeurs, la fréquence de l'expectoration est de 30,4 % entre 30 et 39 ans, 50,2 % entre 40 et 49 ans, et 54,8 % entre 50 et 60 ans (51).

FREOUR & Coll. (134) examinèrent 1 357 sujets (hom-



Mortalité par emphysème et bronchite chronique. États Unis 1950 - 1966 - d'après National Center For Chronic Disease Control (373)



Mortalité par emphysème et bronchite chronique et par cancer du poumon : États-Unis 1950 - 1966 (échelle logarithmique) d'après National Center For chronic Disease Control (378)

Figure 1

Mortalité par emphysème et/ou bronchite chronique aux Etats-Unis, de 1950 à 1964, pour 100 000 personnes.

Année	Nombre de décès	Année	Nombre de décès	Année	Nombre de décès
1950	3 157	1955	5 616	1960	12 426
1951	3 660	1956	6 535	1961	13 302
1952	3 846	1957	8 136	1962	15 915
1953	4 657	1958	9 328	1963	19 443
1954	4 877	1959	10 433	1964	20 208

D'après U.S. PUBLIC HEALTH SERVICE (374).

TABLEAU VI

nes de 30 à 70 ans) : l'influence du tabagisme dans la symptomatologie bronchitique s'est révélée significative (les symptômes majeurs apparaissent à partir d'une consommation de 15 cigarettes par jour et plus, et à partir d'une moyenne de 15 années de consommation).

Parmi les études prospectives, BEST & Coll. (38) commencèrent une étude en 1955 sur près de 78 000 hommes, étudiant leur mortalité durant une période de 6 ans. La mortalité se trouva plus élevée parmi les fumeurs et en relation directe avec le nombre de cigarettes fumées.

L'étude de DOLL & HILL (103) montre aussi clairement la relation entre le tabagisme et la mortalité par broncho-pneumopathie chronique.

II - PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

A - Composition de la fumée

1 - Formation de la fumée.

La fumée de cigarette résulte de la combustion incomplète du tabac. Seule, la tranche en ignition (où la température atteint environ 850°) est le siège d'une combustion complète (la teneur en O_2 y étant suffisante (151).

Au fur et à mesure que l'on s'éloigne de cette zone, l'air s'appauvrit en O_2, la combustion devient incomplète et des produits de moins en moins oxydés se forment.

Il se produit au moins 3 types de réactions, simultanément, au cours de la combustion :

- pyrolyse
- pyrosynthèse
- distillation (400).

La pyrolyse consiste en la décomposition thermique du tabac : les substances organiques sont fractionnées en de plus petites molécules.

Ces nouveaux fragments se recombinent entre-eux et forment des composants, qui, à l'origine, n'étaient pas présents dans le tabac : c'est la pyrosynthèse.

Enfin, il se produit des phénomènes de distillation pour certains composants (c'est le cas pour la nicotine).

2 - Nature des produits formés.

La fumée de tabac est un mélange hétérogène de gaz, vapeurs non condensées et de particules (282 - 283).

On peut distinguer 2 phases (208 - 400) :
- une phase "gazeuse"
- une phase particulaire dont les définitions, peu précises, seront vues ultérieurement.

La phase gazeuse est composée des vapeurs non condensées et des gaz.

La phase particulaire est constituée d'un aérosol comportant les substances volatiles "dissoutes" dans la phase dispersée et les particules (dont la taille varie de 0,1 à 0,8 microns) (208 - 243).

Il y a une concentration importante de particules

dans la fumée de tabac : 1 ml de fumée provenant d'une cigarette sans filtre contient environ 5 x 10^9 particules. La fumée de tabac crée donc un environnement respiratoire très dense si on le compare avec les plus grandes concentrations rapportées pour les aérosols des polluants urbains : 10^5 particules par ml (401).

La fumée produite par une cigarette moyenne pèse environ 500 mg (196).

5 à 10 % représentent la phase particulaire, le reste correspondant à des substances gazeuses.

Pour ces dernières, on relève :

- 12 à 15 % de CO^2
- 3 à 6 % de CO
- 55 % de N2
- 13,4 % de O2 (tableau VII) (196).

Lors de la combustion d'une cigarette, il se produit deux sortes de courant : (411)

- le courant primaire : c'est-à-dire la fumée qui est directement aspirée par le fumeur,

- le courant secondaire : c'est-à-dire la fumée qui se dégage dans l'atmosphère, surtout entre les aspirations, et que respirent non seulement le fumeur mais aussi les sujets se trouvant dans l'ambiance enfumée.

3 - Analyse de la fumée.

Des analyses comparatives valables de la fumée produite par une cigarette se sont avérées possibles grâce à des

Composition de la fumée.

KEITH & TESH (1965), d'après WYNDER & HOFFMAN (40).

Cigarettes sans filtre, 85 mm de longueur, 10 "bouffées" de 38,9 ml de volume, mégot de 30 mm.

Composé	Poids en mg/cgtte	%
Phase particulaire	40,6	8,2
Azote	295,4	59
Oxygène	66,8	13,4
Gaz carbonique	68,1	13,6
Oxyde de carbone	16,2	3,2
Hydrogène	0,7	0,1
Argon	5,0	1,0
Méthane	1,3	0,3
Vapeur d'eau	5,8	1,2
Hydrocarbures en C_2 - C_6	2,5	0,5
Carbonyls	1,9	0,4
Acide cyanhydrique	0,3	0,1
Autres composés gazeux	1,0	0,2
TOTAL	505,6	101,2

TABLEAU VII

machines à fumer fonctionnant dans des conditions "normalisées" de "fumage", conditions obtenues en se basant sur des moyennes effectuées chez les fumeurs (208) : ainsi, l'appareil à fumer décrit par NEWMANN & Coll. (287), "tire" une bouffée standard, c'est-à-dire 35 ml en 2 secondes, toutes les 60 secondes. On emploie ensuite des méthodes telles la chromatographie en phase gazeuse (144), la spectrographie de masse pour préciser les divers éléments.

Ces analyses séparaient généralement phase gazeuse et phase particulaire (287). Mais des inconvénients tenant aux modes de préparation (contamination entre les bouffées d'une seule cigarette, vieillissement de la fumée, réactions secondaires dues à l'emploi de certains solvants), ont incité certains auteurs, dont NEWMANN & Coll. (287) à utiliser une méthode permettant l'analyse de la fumée totale produite par une cigarette : la fumée est refroidie à - 190° en moins d'une seconde (entre le temps de sa formation et celui de sa collection), puis la chromatographie en phase gazeuse est effectuée par élution et réchauffement progressif.

Mais, quelle que soit la méthode utilisée, les travaux effectués ont révélé l'extrême complexité de la composition de la fumée (151).

Selon GUILLERM & Coll. (151), à côté de produits normaux de combustion, on note la présence de substances caractéristiques d'une oxydation incomplète : dérivés cétoniques et aldehydiques notamment, qui proviendraient de la rupture de chaînes cellulosiques et que l'on retrouverait dans de nombreuses combustions.

Si la composition qualitative de la fumée reste assez invariable, il n'en est pas de même pour la composition quantitative, qui varie suivant : la nature du tabac et ses caractéristiques (épaisseur de la feuille, degré d'humidité, longueur de la cigarette), le mode de combustion (la façon de fumer : la fréquence des bouffées, leur volume, leur durée) (151), la température de la zone de combustion (dépendant d'ailleurs de certains des facteurs ci-dessus : nature du tabac et degré d'humidité en particulier (356 - 283). C'est ainsi que, en ce qui concerne la nicotine, sa quantité serait diminuée lorsque l'humidité de la cigarette augmente (286), l'humidité favorisant la décomposition de la nicotine (286). SHAKHNOVSKY (347), étudiant l'influence du diamètre de la cigarette sur la composition de la fumée, note une variation de la nicotine (et du carbonyl), en fonction de ce diamètre. Quant au condensat, sa quantité ne semble que peu influencée par l'humidité atmosphérique (286). Par contre, elle serait accrue lors de l'augmentation de fréquence des bouffées (196 - 395).

Le tableau de KABURAKI & Coll. (tableau VIII) résume la relation entre la façon de fumer et la production de "goudron", pour différentes sortes de tabac.

Il faut cependant noter que la composition chimique de la fumée peut varier avec les caractéristiques de la feuille de tabac (des études sont actuellement en cours concernant ce problème)(100, p. 4), avec le traitement du tabac, le séchage (100, p. 104), l'infection virale (100, p. 104), l'emploi de certains engrais (avec ou sans arsenic).

Plus de 1 200 composés ont été identifiés dans la fumée ou le tabac, plus de 95 % se trouvant dans la phase

TABLEAU VII

RELATION ENTRE LA FACON DE FUMER ET LA PRODUCTION DE "GOUDRON"

KABURAKI et coll 1965 — D'après WYNDER et HOFFMANN (1959)

CONDITIONS		NATURE DU TABAC	NOMBRE DE BOUFFEES	"GOUDRON" DANS LA FUMEE (mg/cgtte)	"GOUDRON" EN % DE TABAC BRULE	mg par bouffée
Volume des bouffées (ml/sec)	5,0	Bright yellow	15	11,1	1,8	0,7
	17,5		12	32,8	5,4	2,7
	25,0		12	44,5	7,3	3,7
	5,0	Matsukawa	8	6,1	1,6	0,8
	17,5		6	19,5	5,0	3,3
	25,0		5	28,2	7,2	5,6
	5,0	Burley	7	4,3	1,0	0,6
	17,5		6	14,6	3,4	2,4
	25,0		6	25,6	5,9	4,3
Fréquence des bouffées (bouf/mits)	1	Bright yellow	12	36,3	6,0	3,0
	2		17	51,0	8,4	3,0
	3		19	57,0	9,4	3,0
	1	Matsukawa	6	22,2	5,6	3,7
	2		10	36,9	9,4	3,7
	3		11	42,3	10,8	3,9
	1	Burley	6	15,6	3,6	2,6
	2		10	26,9	6,2	2,7
	3		11	30,7	7,1	2,8
Durée des bouffées (sec)	2	Bright yellow	12	36,3	6,0	3,0
	4		9	69,5	11,4	7,7
	6		8	82,3	13,5	10,3
	continue		1	139,3	22,9	139,3

Tableau VII (suite)

Longueur de tabac consommé (en mm)	25	Bright yellow	8	19,6	5,2	2,5
	40		12	32,8	5,4	2,7
	55		17	51,3	6,1	3,0
	25	Burley	4	7,7	2,8	1,4
	40		6	14,6	3,4	2,4
	55		8	26,2	4,4	3,3

particulaire (ou condensat) (354). Il semblerait, en fait, que ce nombre atteigne environ 4 000 composés dont certains, nuisibles, n'auraient pas encore été détectés (100, p. 247/8).

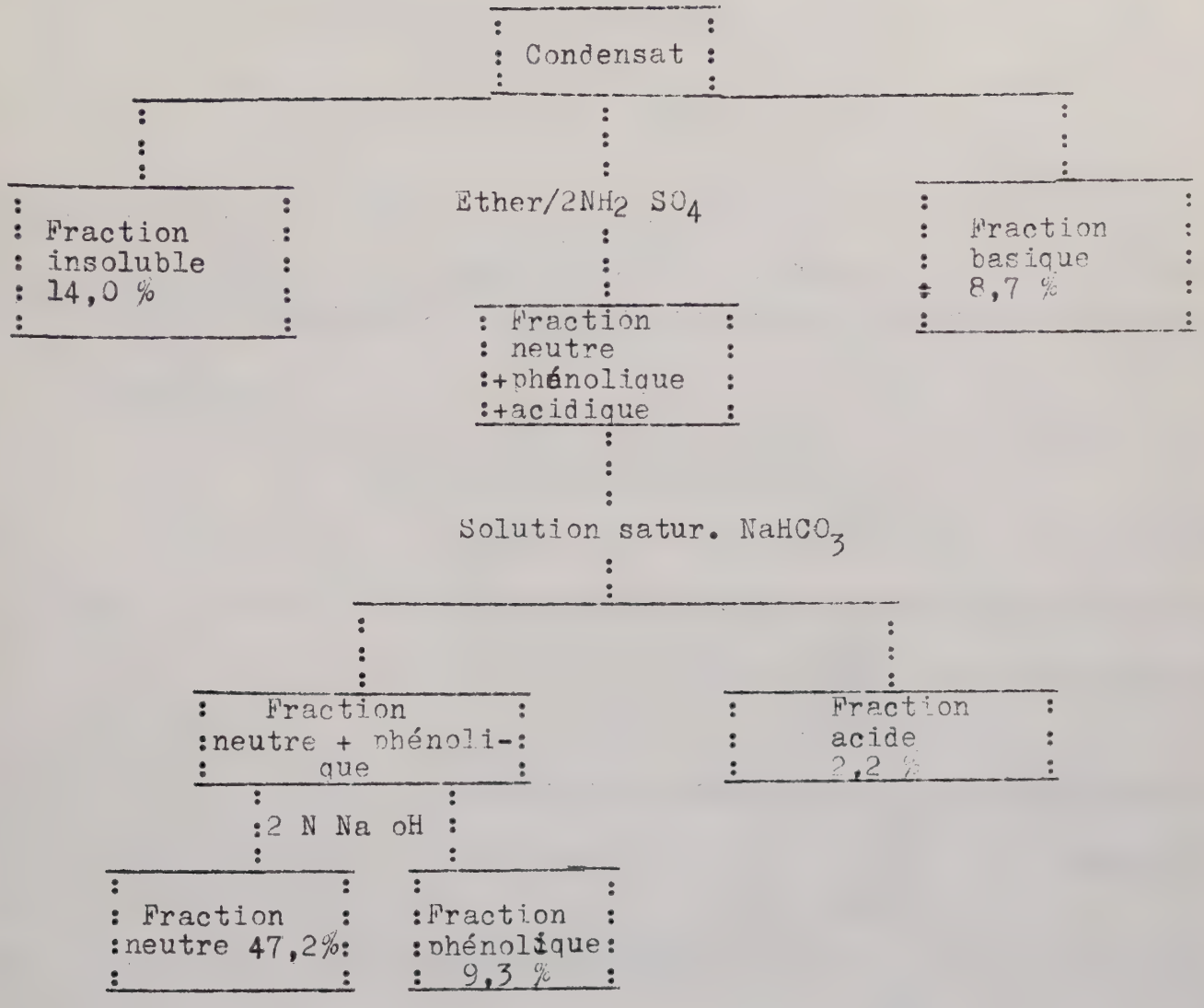
KEITH & TESH (196) donnent, en un tableau (tableau VII), un aspect quantitatif des substances composant la fumée.

Dès 1957, WYNDER & Coll. (408) séparèrent le condensat de fumée de cigarette en différentes fractions : neutre, acide, phénolique, basique et insoluble, chacune étant, par la suite, décomposée en sous-fractions (tableau IX). Ils établirent par la suite une liste plus complète des éléments de la fumée de cigarette (400). On peut ainsi distinguer :

a - Hydrocarbures aromatiques.

dont certains se sont révélés cancérigènes (tableau X).

Les premiers auteurs à identifier les hydrocarbures polycycliques aromatiques de la fumée furent COOPER & LINDSEY (71), COMMINS & Coll. (67). En particulier, la présence de benzopyrène fut mise en évidence (45 - 281). COOPER & LINDSEY (71) rapportèrent la présence de 4,0 gamma de 3-4 benzopyrène dans la fumée de 500 cigarettes. Son identification étant faite grâce à des techniques spectographiques (69 - 271). Toujours pour 500 cigarettes, BONNET & Coll., WRIGHT & Coll., LATARJET & Coll. auraient isolé, respectivement 11,0 gamma, 4 gamma, 6,0 gamma de benzopyrène (45 - 46). Il a été rapporté une méthode simple et rapide pour déterminer le 3-4 benzopyrène (B.P.) dans le condensat : la séparation du B.P. de la fraction neutre est obtenue au moyen d'une chromatographie sur colonne d'alumine,



Fractionnement du condensat

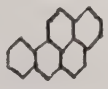
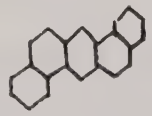
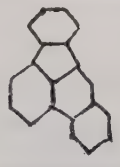
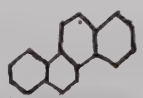
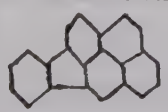
d'après WYNDER et Coll. (404)

TABLEAU IX

TABLEAU X.

Hydrocarbures carcinogènes isolés de la fumée de cigarette.
souris : voie cutanée.

d'après WYNDER & HOFFMANN (400).

Liste	Structure	activité carcinogène	Quantité en micro-grams isolée de la fumée de 100 cgttes
zo(a)pyrène		+++	2,5 (3,9 ± 0,3)
enzo(a,h) nracène		+++	0,4
zo(b)fluoran- ne		++	0,3
zo(j)fluoran- ne		++	0,6
enzo(a,l) ene		++	Traces
s(a)anthracène		+	0,3
rsène		+	6,0
o(e)pyrène		+	0,3
no(1,2,3-cd) ne		+	0,4

activité carcinogène sur l'épiderme de souris : +++ élevée, ++ modérée, + faible.

suivie d'une chromatographie sur papier. La détermination est ensuite accomplie à l'aide de la spectrométrie en U.V.

La formation d'hydrocarbures serait favorisée par une température élevée. Nous avons vu que celle du cône en combustion était d'environ 850° C. Il semble qu'elle varie entre 500 et 950° C, ces variations tenant aux facteurs énumérés ci-dessus. De telles variations dans la température pourraient expliquer les différences observées dans les résultats analytiques.

b - Terpènes - certains esters.

Les Terpènes :

- ont été isolés du tabac et de safumée,
- présentent un grand intérêt en matière de carcinogénèse (ils pourraient être des précurseurs de carcinogènes ou des promoteurs de tumeurs).

c - Alcanes - Alcènes.

1 - Alcanes

- ils posent le problème de leurs propriétés cancérigènes.

2 - Alcènes

- ils ne jouent pas un rôle significatif dans la cancérogénèse du tabac (ils sont en quantité plutôt faible dans la fumée).

d - Composés nitrés hétérocycliques.

1 - Fraction basique du condensat :

- elle varie selon le type de tabac, de même que son contenu en nicotine et nornicotine.

2 - Dibenzacridine

- la dibenz (a,j) acridine a vu son activité cancérigène prouvée chez la souris par voie cutanée.

3 - Dibenzocarbazole

4 - Certaines bases

- (telle la pyridine) furent isolées.

5 - Amines secondaires :

- on en a relevé 21 dans la fumée de tabac; la nornicotine serait la plus abondante.

Parmi les autres, on note :

- la diméthylamine, la diéthylamine, la pyrrolidine, l'anabasine. la pipéridine (47).

6 - Pyrolyse des alcaloïdes du tabac :

- On a vu que, lors de la combustion de la cigarette, il se produisait des phénomènes de pyrolyse. Ainsi, dans des conditions "standards" environ 34 % de la nicotine et plus de 90 % de la nornicotine sont pyrolisés.

e - Composés phénoliques et acides carboxyliques.

1 - Composés phénoliques

- on leur reconnaît un rôle dans la formation de tumeurs cutanées chez la souris, par le condensat, et une ciliotoxicité.

2 - Acides carboxyliques

- on a pu isoler un grand nombre d'acides organiques dans le tabac et la fumée de tabac.

f - Aldéhydes et cétones

NEWSOME & Coll. (288 - 289) établirent la liste des aldéhydes et cétones obtenus par chromatographie en phase gazeuse de la fumée de cigarett pour les cigarettes avec ou sans filtre à acétate de cellulose. Ils trouvèrent en particulier :

- Aldéhydes : Formaldéhyde, Acétaldéhyde, Proprionaldéhyde, Acroléine ...
- Cétones : Acétone, 2-Butanone, Buténone, 2-3 Butanedione ...

TESTA (364) identifie 2 cétones cycliques :

- la 1-9-Fluorenone et la 11-1 Indanone dans le condensat issu de cigarettes en tabac brun.

g - Stéroïdes :

- on trouve des phytostérols et des esters du phytostérol. Parmi ces derniers, on mit surtout en évidence les suivants :
- palmitate, stéarate, oléate, et des traces de myristate, linoléate.

h - Epoxydes, composés péroxydes et lactones.

i - Nitrosamines :

D'après certains auteurs, les nitrosamines ne peuvent être formées durant l'inhalation active Leur formation surviendrait plus probablement lors de la collection du condensat dans des systèmes à refroidissement ou dans l'acétone. Néanmoins, l'onsaccorde à considérer la fumée de cigarette comme une source potentielle de

N-Nitrosamines (373), celle-ci contenant les précurseurs de ces substances (amines secondaires et oxydes nitreux).

j - Phase vapeur de la fumée :

La définition semble assez arbitraire. Pour les études sur la carcinogénèse expérimentale, les constituants de la phase vapeur sont les composés qui échappent à la précipitation lors de la condensation du goudron. Beaucoup de chimistes définissent ces éléments comme étant ceux qui passent dans un filtre de Cambridge CM 113 (à fibre de verre).

La phase vapeur contient :

1 - O_2 - N_2 - Argon et H_2.

Le contenu en O_2 dans la fumée totale d'une cigarette serait fonction de l'air entrant dans le cône en combustion de la cigarette (dont une partie est utilisée dans la combustion) et principalement de l'air passant à travers le papier.

La zone en combustion de la cigarette représente une atmosphère de réduction . Le H_2 dans la fumée totale dériverait exclusivement des constituants du tabac.

2 - CO_2 et CO, déterminés par chromatographie gazeuse par WATANABE & Coll. (383) en particulier.

Mais la phase vapeur contient aussi :

- des hydrocarbures volatiles

on en a identifié 55, dont 40 avec certitude.

- des esters volatiles

- des furanes et dérivés

furane, 2-méthylfurane ...

- du HCN

dont KENSLER & BATTISTA ont montré la cilioto-xicité pour l'épithélium cilié de mammifères (198).

- ainsi que d'autres composés variés.

k - Contenu en nitrate du tabac

NEURATH, EHMKE (285) déterminent le contenu en nitrate par une méthode photométrique pour diverses sortes de tabac.

l - Particules chargées - Radicaux organiques et Radioactivité.

1 - Particules chargées

La fumée de tabac contient environ 2×10^9 particules chargées par cm^3. Cette formation survient dans le cône en combustion. Cependant un nombre approximativement égal de particules chargées - est présent, ce qui a pour résultat une fumée de charge à peu près neutre.

2 - Radicaux organiques

3 - Radioactivité

TURNER & RADLEY (372) trouvèrent du radium-228 et du radium-226 dans le tabac et la fumée de tabac.

Du polonium 210 fut aussi mis en évidence, ainsi que du potassium-40 et du C14.

D'après le rapport du Public Health Service (373), de nouvelles données sur le PO-210 dans le tabac et la fumée de cigarette ont été rapportées par divers pays (50 - 128 - 310 - 370 b).

Seuls 30 à 50 % du polonium 210 contenu dans le tabac (dont la quantité varie d'ailleurs selon les auteurs) seraient récupérables dans le courant primaire de la fumée de cigarette sans filtre.

On a attribué sa présence (aux Etats-Unis) à l'emploi d'engrais au phosphate (370 b). Sa responsabilité dans la cancérogénèse pulmonaire semble, on le verra, de moins en moins vraisemblable.

En 1957, CHOJNOWSKI & Coll. (63) rapportèrent une quantité relativement élevée de C_14 dans le goudron, le CO_2 et le CO. Là aussi, le rôle d'une telle substance dans la carcinogénèse fut soulevé.

m - Insecticides

La fumée de cigare contient de l'arsenic, dont la présence semble devoir être due à l'emploi d'insecticides arsenicaux pulvérisés par les planteurs aux U.S.A. (25), d'autant plus que la diminution actuelle de cette substance dans le tabac semble coïncider avec l'abandon progressif de ce type d'insecticide au profit des insecticides organiques. Ces derniers sont d'ailleurs retrouvés dans la feuille de tabac et la fumée de cigarette

(156 - 400). Le premier identifié fut le :
- 1,1-dichloro-2- (o-chlorophényl) - 2- (p-chlorophényl) éthane (o,p' - DDD) (256).

n - Additifs

Des humectants (propylène-glycol-glycérol) sont présents dans le tabac; ils ont pu être retrouvés en proportions variables dans la fumée.
D'autres substances : colorants, substances donnant du goût, sont également présentes. Elles peuvent d'ailleurs être les précurseurs d'autres composants.

o - Composés métalliques

Les études chimiques ont montré une quantité appréciable d'éléments métalliques dans le tabac. Leur présence dans la fumée est, cependant, probablement insignifiante du point de vue biologique, à moins que ces métaux ne soient radioactifs. La présence de nickel dans la fumée de cigarette a été confirmée par PAILER & Coll. (295), mais en quantité moindre que celle rapportée par d'autres auteurs.
Il se pose la question importante de savoir si ce métal se trouve dans la fumée sous la forme de carbonyl de nickel, puisque celui-ci se montre capable d'induire des tumeurs pulmonaires chez l'animal d'expérience, à de très faibles concentrations (400).

p - Contamination du tabac

La contamination du tabac par des éléments fungiques (129) (Aspergillus flavus) est importante

à connaître. Certains pourraient synthétiser des substances cancérigènes.

De même, la contamination par le virus de la mosaïque du tabac est d'intérêt dans le cadre de la cancérogénèse.

q - Courant secondaire

Des études ont aussi porté sur la fumée de cigarette dispersée dans l'air ambiant et KOTIN & FALK (207) en particulier, y ont isolé des hydrocarbures polycycliques. D'après SCASSELLATI & Coll. (100, p. 229), goudron, nicotine, hydrocarbures aromatiques polycycliques et gaz toxiques seraient présents à de fortes concentrations dans le courant secondaire de la fumée de cigarette.

r - Fumée de cigare et de pipe

Les études ont principalement porté sur la fumée de cigarette, puisque c'est surtout celle-ci qui est utilisée par les fumeurs.

Certains auteurs se sont, néanmoins, intéressés à la composition de la fumée de pipe et/ou de cigares (57 - 265).

Des hydrocarbures polycycliques, en particulier, furent isolés dont, pour la fumée de cigare :

- de l'acénaphtylène, du phénanthrène, de l'anthracène, du pyrène, du fluoranthène, du 3-4 benzopyrène (57).

s - Papier de cigarette

La responsabilité du papier de cigarette dans la cancérogénèse fut soupçonnée et l'on fabriqua de

"cigarettes" faites entièrement de papier (299).

Le "goudron" obtenu fut analysé et des hydrocarbures polycycliques aromatiques mis en évidence : le 3-4 benzopyrène en particulier (70 - 228 - 299 - 312).

4 - Etude de la distribution de la fumée dans l'appareil respiratoire.

On l'a vu, la fumée de tabac est un aérosol contenant de nombreuses particules en suspension, dont la taille, l'hétérogénéité, ont été étudiées (400).

Des recherches ont aussi été entreprises afin d'essayer de préciser les parties de l'arbre respiratoire où la fumée et ses éléments se déposent préférentiellement. WOLFF, PURDOM & ISENHOWER 1954 (387) utilisèrent de la fumée de cigarette traitée par des radioisotopes (carbonate de K^{42} et de NA^{24} ou oxyde d'AS^{74}) chez le chien anesthésié, maintenu sous respiration artificielle. 4 à 7 ml par bouffée de fumée d'une cigarette traitée étaient introduits en début d'inspiration. A la fin de l'expérience, l'étude de la distribution de la radioactivité dans les poumons a permis de démontrer que la fumée se déposait au hasard et plus ou moins uniformément dans toutes les parties des poumons.

Une méthode semblable, utilisant l'iode 131 permit à WOLFF, TUTTLE & GODFREY 1954 (388), d'observer aussi une distribution diffuse de la fumée dans les poumons avec un dépôt important sur les parois des grosses et des petites

bronche

HOLLAND & Coll. 1958 (182) étudièrent la distribution pulmonaire d'AS radioactif chez des lapins soumis à l'inhalation de la fumée de 3 cigarettes imprégnées de 100 microcuries de AS^{74}. Deux heures après, la radioactivité de l'arbre respiratoire formait 0,01 % de l'AS^{74} volatilisé et se distribuait de la façon suivante :

- voies nasales et naso-pharynx :	25,7 %
- larynx :	1,7 %
- trachée :	1,4 %
- carène et bronches souches :	0,5 %
- lobe supérieur droit :	7,3 %
- lobe supérieur gauche :	7,8 %
- lobe moyen droit :	7,0 %
- lobe inférieur droit :	21,6 %
- lobe inférieur gauche :	21,9 %
- lobe cardiaque droit :	5,0 %

KINKEL (202), examinant des coupes de tissu pulmonaire de rats (ceux-ci ayant inhalé de la fumée de cigarette) observe la localisation des particules fluorescentes : elle se fait spécialement à proximité des plus grosses bronches. Une corrélation entre le nombre et la taille des particules fluorescentes et la quantité de cigarettes fumées a aussi été notée.

En 1955, ERMALA & HOLSTI (117) utilisèrent une maquette de l'appareil respiratoire humain; une couche uniforme de blanc d'oeuf était étalée sur la surface interne de la maquette pour simuler le mucus. Une pipe ou une cigarette était placée entre les lèvres de la maquette et une aspira-

tion créée. Au niveau de l'arbre respiratoire, le goudron se localise surtout dans les régions où la fumée se heurte aux parois des organes : région amygdalienne, cordes vocales, bifurcations trachéale et bronchiques. Seules, de petites quantités étaient observées sur la trachée. La distribution varie aussi beaucoup selon le mode d'utilisation du tabac (pipe, cigarette) : avec la pipe, les dépôts se font surtout dans la partie antérieure de la cavité buccale.

Du point de vue microscopique, MELLORS (261) étudia chez les rats la localisation de la fumée grâce aux substances fluorescentes qu'elle contient. Le rôle des phagocytes alvéolaires, des sécrétions muqueuses dans la collection et la redistribution des produits fluorescents fut aussi apprécié.

B - Choix de l'animal d'expérience

Il est évident que le modèle expérimental idéal devrait simuler le plus exactement possible le fumeur (403).

Il serait important de pouvoir utiliser des espèces se rapprochant le plus possible de l'homme par leur taille et leur structure trachéo-bronchique, si l'on veut appliquer à celui-ci les résultats obtenus.

Or, il apparaît qu'un très grand nombre d'espèces animales a servi en matière d'expérimentation sur le tabac (expériences in vivo et expériences in vitro).

Les animaux les plus fréquemment utilisés furent les petits animaux de laboratoire (chat, souris, rats,

cobayes, hamsters).

La diversité rencontrée dans le choix de l'espèce tient à de nombreux facteurs. Parmi ceux-ci :

- difficulté d'utiliser des espèces souvent coûteuses (le chien par exemple).
- durée de vie de l'espèce (le lapin est apprécié pour sa durée de vie assez longue (179).
- structure anatomique (voies aériennes supérieures et arbre trachéo-bronchique).
- facilité à inhaler la fumée (le lapin, ceci étant prouvé par l'emploi de fumée de cigarette imprégnée d'arsenic radioactif (AS^{74}), inhale la fumée (180).
- susceptibilité aux infections pulmonaires.
- incidence spontanée des tumeurs pulmonaires.
- type histologique des tumeurs.
- facilité de cancérisation (en particulier pour le hamster, alors que le cobaye serait plus réfractaire aux agents cancérigènes) (41 - 330).
- sensibilité à la toxicité de la nicotine et du CO (le hamster serait beaucoup moins sensible à la nicotine que le rat) (116 - 325).

1 - <u>Importance de la structure anatomique</u>

- <u>Fosses nasales</u>

WYNDER & HOFFMAN (400 - 403), en particulier, insistèrent sur le système de filtration remarquable des voies nasales des souris et de certains autres rongeurs, permettant la rétention de particules de fumée, les empêchant d'atteindre le poumon (ceci dans le cadre d'expérience d'inhalation

en cage enfumée).

GUILLERM & Coll. (151) insistèrent aussi sur le rôle de filtre des fosses nasales du chien lors d'inhalation (par un masque, par exemple). Chez cet animal, la surface pituitaire est très développée (nombreux replis des cornets), et lors d'expérience sur la ciliotoxicité du tabac, il semble que l'agent actif se dissolve à ce niveau dans le mucus. Ceci est important, car l'homme aspire la fumée par la bouche au contraire de l'animal qui, lui, la respire par le nez.

- Structure de l'arbre trachéo-bronchique

KOURILSKY & HAPPERT (209) étudièrent la systématisation pulmonaire de la souris en comparant avec celle de l'homme; chez l'homme, le poumon droit est divisé en 3 lobes, le gauche en 2. Chez la souris, on note l'absence de lobulation à gauche et la subdivision en 4 lobes à droite. Si l'on s'en tient à la systématisation segmentaire, il existe, selon ces auteurs, "une similitude remarquable entre les poumons humain et murin puisque, dans l'un et l'autre cas, chacun d'eux est composé de 10 segments autonomes, parfaitement superposables d'une espèce à l'autre".

Pour GREENBERG & HALLMAN (143), CAHAN & KIRMAN (55), le chien est considéré comme un animal intéressant par sa taille et par la structure de son arbre trachéo-bronchique qui se rapproche de celle de l'homme.

Pourtant, Mc LAUGHIN & Coll. (253) étudièrent l'anatomie pulmonaire chez divers mammifères et chez l'homme : des différences très marquées existent entre les poumons de ces diverses espèces. Ceci implique donc une grande prudence

quant à l'application à l'homme de résultats d'études portant sur l'appareil broncho-pulmonaire (les différences anatomiques entraînant des différences physiologiques) et ceci particulièrement lors de l'emploi du chien, du chat ou du singe.

Il semble logique d'utiliser l'animal dont les poumons sont semblables à ceux de l'homme. D'après les études de ces auteurs, l'anatomie pulmonaire du cheval ressemble de façon remarquable à celle de l'homme.

Si, naturellement, il ne peut être question d'utiliser couramment un tel animal, il semble nécessaire de toujours garder à l'esprit les différences de structures pulmonaires entre les espèces animales et l'homme et d'en tenir compte dans les résultats observés.

2 - Susceptibilité aux infections pulmonaires

SHABAD (346) préfère utiliser le rat à la souris dans ses expériences de cancérisation pulmonaire, celui-là étant plus résistant que la souris à nombre d'infections pulmonaires (virales en particulier).

Chez le hamster, les infections pulmonaires semblent encore plus rares, contrairement à d'autres espèces (cobayes) (313 - 330).

D'après HOLLAND (182 - 179), l'arbre respiratoire du lapin présenterait l'avantage de répondre à de nombreuses maladies infectieuses pulmonaires de façon similaire à l'homme, ce que ne ferait aucun autre animal de laboratoire (avec une exception possible pour le singe).

Parmi les souris, certaines souches sont plus ou moins sensibles. C'est ainsi que ESSENBERG (120) tente d'exposer des souris de la souche C57 pendant plusieurs mois dans une enceinte enfumée. Cependant, avant que l'année ne soit terminée, tous les animaux étaient morts. L'examen microscopique des poumons montre que tous étaient morts de pneumonie. Une étude ultérieure démontre que la souris C57 était beaucoup plus sensible à la pneumonie que la souris A/JAX.

3 - Incidence des tumeurs pulmonaires spontanées.

- Importance :

Il est important de connaître le taux de tumeurs pulmonaires spontanées chez l'animal, afin de pouvoir imputer à l'agent testé un accroissement des néoplasmes.

Chez les rongeurs, il semble que les souris surtout soient susceptibles de présenter des tumeurs primitives. Ces tumeurs sont histologiquement différentes du type habituel de cancer pulmonaire survenant chez le fumeur (adénomes chez la souris, cancer épidermoïde chez l'homme).

Encore faut-il, à l'intérieur de l'espèce, connaître la souche à laquelle on s'adresse :

- les souches C57 et C3H présentent rarement des tumeurs pulmonaires spontanées (6 - 7 - 400). Au contraire, la souche A semble avoir une forte tendance héréditaire aux tumeurs pulmonaires (80 à 90 %) (119 - 210).

Le cancer pulmonaire spontané paraît ne pas être

rencontré chez le rat sauvage (210) et on l'observerait très rarement chez le rat d'élevage.

BULLOCK & CURTIS (54 - 72) trouvèrent 4 et peut-être 5 tumeurs pulmonaires spontanées malignes dans une étude de plusieurs années portant sur une colonie de 7 000 à 10 000 rats; ces tumeurs survenaient chez des animaux âgés de plus d'un an (rat sénile). Les tumeurs pulmonaires, chez le rat, qu'elles soient spontanées ou provoquées, sont en relation avec l'âge (41).

De nombreux auteurs préfèrent, pour cette raison, utiliser le rat plutôt que la souris dans leurs expériences de cancérogénèse :

- BLACKLOCK (40) utilise des rats blancs de la souche C B.

- GUERIN (145) choisit le rat, non seulement parce qu'il présente des tumeurs pulmonaires (146), mais aussi parce que celles-ci sont, plus souvent que chez la souris, de type épidermoïde, se rapprochant ainsi de la pathologie humaine (ces rats appartiennent à la souche I C) (Institut du Cancer), et W (Wistar).

- Le hamster syrien doré fut choisi lui aussi pour les expériences de cancérisation, car il ne présente pratiquement jamais de tumeur spontanée du poumon (ni adénome, ni tumeur d'un autre type), un seul exemple de lésion pulmonaire adénomateuse fut relevé sur 500 animaux témoins (330).

- Chez le cobaye, l'incidence y serait aussi très faible (322), aucun cas n'aurait été relevé dans la littérature (41).

- Pour HOLLAND (180 - 179), il n'y a pas de souche connue chez le lapin pour être portée à faire spontanément des tumeurs du poumon. Cependant, KOURILSKY, HAPPERT, FREDY (210) en rapportent une fréquence assez élevée, 8,5 %.

- PEACOCK (300) utilise des oiseaux, la fréquence du cancer pulmonaire y semblant, là aussi, faible.

- Ces dernières années, le chien a été utilisé comme animal d'expérimentation pour les études sur la relation possible entre tabac et carcinome bronchique.

Les tumeurs spontanées pulmonaires, chez cet animal, seraient extrêmement rares (16 - 143 - 318).

Dans une revue de 9 282 nécropsies chez le chien, seulement 16 carcinomes furent trouvés. Parmi ceux-ci, 13 étaient des cancers à cellules cylindriques, 1 était indifférencié, et seulement 2 étaient des cancers à cellules pavimenteuses (290 - 291).

Pour JUBB & KENNEDY (194), 75 % des tumeurs primitives du chien sont des tumeurs bronchiolo-alvéolaires. Elles peuvent être multicentriques dans 1 ou dans les 2 poumons, mais surviennent typiquement comme des nodules solitaires siégeant à la périphérie du lobe diaphragmatique. Elles croissent par expansion et infiltration. Du point de vue histologique, ce sont des tumeurs acineuses, d'apparence plutôt bénigne, dans lesquelles les cellules néoplasiques se développent surtout au niveau des parois alvéolaires. Seule une petite proportion métastase.

Pour BRODEY & CRAIG (53), le cancer du poumon est une maladie du chien âgé. Cependant, KOURILSKY, HAPPERT &

ESPECE ANIMALE		PARTICULARITES	TYPE D'EXPERIENCE	REFERENCES
Paramécie	in vitro		Etude ciliotoxicité	WEISS et coll (385)
Mollusques	in vitro		Etude ciliotoxicité	WYNDER et coll (391) WALKER et coll (381)
Grenouille	in vitro (oesophage)		Etude ciliotoxicité	FALK et coll (124) BERNFIELD et coll (36)
Canard	in vivo	Tumeurs pulmonaires spontanées rares	Essais de cancérisation	RIGDON et coll (314)
Poulet	in vitro (trachée)		Etude ciliotoxicité	BOCHE et coll (42) KENSLER et coll (200) BATTISTA et coll (32-33)
	in vivo	-Capable de recevoir des volumes relativement importants de fumée, sans risque de PNO grâce aux sacs aériens. -Trachée facilement extériorisée.	Etude ciliotoxicité	BATTISTA et coll (34)
Poule	in vivo	Tumeurs pulmonaires spontanées rares	Essais de cancérisation	PEACOCK (300)
Hamster syrien doré	in vivo	-Infections pulmonaires rares -Tumeurs pulmonaires spontanées rares -Serait moins sensible que les autres rongeurs à la toxicité de la nicotine.	Essais de cancérisation	DELLA PORTA et coll (97) DONTENWILL et coll (104) HERROLD (168) WYNDER et coll (406)

Cobaye	in vitro (poumons)		Etude libération d'histamine	SAINDELLE et coll (332) DOUGLAS et coll. (107)
	in vivo	Tumeurs pulmonaires spontanées rares	Etude libération d'histamine	LUPU et coll. (251) DOUGLAS et coll. (107)
		Serait difficilement cancérisable	Etude de la fonction ventilatoire	LOOMIS (247) CARSON et coll. (59)
			Essais de cancérisation	GUILLERM et coll. (155) BLACKLOCK et coll. (41)
Souris	in vitro		Etudes histologiques et cytochimiques	LEUCHTENBERGER et coll. (237)
	in vivo	Sensibilité ++ aux infections pulmonaires (souche C57 +++)	Etudes modifications métaboliques	ROSENKRANTZ et coll (324) LAURENZI et coll. (229) WYNDER et coll. (406) SPURGASH et coll. (353)
		Tumeurs pulmonaires spontanées: (type adénome pulmonaire ++) Souche A. fréquentes Souche C57 et C3H: rares	Etude épuration bactérienne et résistance aux infections pulmonaires	ESSENBERG et coll. (119) KOMLZYMSKI et coll (205) LEUCHTENBERGER et coll. (239-241)
			Etudes histologiques et essais de cancérisation	OTTO et coll. (254) KOURILSKY et coll. (209) DI PAOLO (99) HARRIS et coll. (165)
Rat	in vitro - (trachée) - (anneaux trachéaux)		Etude de la ciliotoxicité	FALK et coll (124) GUILLERM et coll. (151) KENSLER et coll. (200)
			Etudes histologiques	PENMAN (100 p. 199)

Chien	in vitro		Etude de la ciliotoxicité	KENSLER et coll. (200)
	in vivo	Tumeurs pulmonaires fréquence : variable selon les auteurs	Etude de la fonction ventila-toire	AVIADO et coll. (22-23)
			Etude de la ciliotoxicité	AUERBACH et coll. (14-15-16)
			Etudes histologiques et essais de cancérisation	CAHAN et coll. (55)
				GREENBER et coll. (143)
				HAMMOND et coll. (162)
				ROCKEY et coll. (317-318)
				TIPTON et coll. (366)
Chèvre	in vitro		Etude de la ciliotoxicité	GUILLERM et coll. (151)
Mouton	in vitro		Etude de la ciliotoxicité	GUILLERM et coll. (151)
			Etude de l'activité macrophagique	MEYER et coll. (264)
Ane	in vivo		Etude de la ciliotoxicité	FRANCES et coll. (133)
			Etude de l'épuration bronchique	ALBERT et coll. (1 - 3)
Bovidés	in vitro		Etude de la ciliotoxicité	HILDING (171)
Singe	in vitro		Etude de la ciliotoxicité	KENSLER et coll. (260)
	in vivo		Etude du comportement	PYBUS et coll. (305)
Homme	épithélium bron-chique		Etude de la ciliotoxicité	BALLENGER (28)
				BALLENGER et coll. (29)
				BOCHE et coll. (42)
			Etudes histologiques	LASNITZKI (224-225)
	fumeur		Absorption des éléments de la fumée - par la muqueuse buccale - par les poumons	DALHAMN et coll. (81-82)
			Etude de la fonction venti.-latoire	NADEL et coll. (277)
				MILLER et coll. (268)
				CLARKE et coll. (66)

Rat	in vivo	Tumeurs pulmonaires spontanées : rares Infections pulmonaires fréquentes	Etudes histologiques et essais de cancérisation	BLACKLOCK (40) MELLORS (261) GUERIN (145) KLEIN (203) ALEXANDROV et coll. (4) SHABAD (344) PYLEV (306) BLACKLOCK (41) HOU et coll. (187) SHABAD et coll. (346) ITO et coll. (188) AVIADO et coll. (21)
			Etude de la ciliotoxicité	DALHAMN (77)
Chat	in vitro		Etude de la ciliotoxicité	KENSLER et coll. (198-200)
	in vivo		Etude de la ciliotoxicité	CARSON et coll. (58) DALHAMN et coll. (83-88-90) DALHAMN (77-78) KAMINSKI et coll. (195)
			Etude de la fonction ventilatoire	PALECEK et coll. (296)
Lapin	in vitro - trachée		Etude de la ciliotoxicité	FALK et coll. (124) KENSLER et coll. (198)
	- macrophages		Etude activité macrophagique	GREEN et coll. (142) YEAGER (410)
	in vivo	Tumeurs pulmonaires spontanées : rares	Etude de la ciliotoxicité	DALHAMN (77)
			Etudes histologiques et essais de cancérisation	LUPU et coll. (251) BLACKLOCK (41) HOLLAND (179)

FREDY (210) considèrent que le cancer pulmonaire chez le chien n'est pas rare.

De plus, AUERBACH & Coll. (16) retrouvèrent des tumeurs bronchiolo-alvéolaires non invasives chez 2 de leurs 8 chiens témoins, non fumeurs, dans une expérience d'inhalation.

Au total, la fréquence des cancers pulmonaires chez le chien semble varier selon les auteurs.

4 - Tableau récapitulatif des principales espèces utilisées.

C - Production de la fumée et de ses éléments.

1 - Fumée totale

La fumée de tabac, on l'a vu, est faite de nombreuses substances.

Les études ont porté parfois sur la "fumée totale", parfois sur la phase gazeuse et/ou la phase particulaire.

Les recherches ont aussi tenté de préciser l'action de substances simples, chimiquement bien définies (78).

Quelle que soit la forme sous laquelle on l'utilise, il faut d'abord produire la fumée. On l'obtient à l'aide de machines à fumer.

Elle peut être utilisée telle quelle ou modifiée (condensat, phase gazeuse). On peut l'analyser ou l'administrer à des animaux.

Si on veut l'utiliser pour des études expérimentales,

il faut qu'elle ait les propriétés physicochimiques de la fumée inhalée par l'homme.

On a vu que la composition quantitative pouvait être modifiée par divers facteurs, en particulier par la manière de fumer.

Il a donc fallu fabriquer des machines reproduisant et simulant la façon de fumer de l'homme, fonctionnant dans des conditions "standard" (c'est-à-dire une bouffée de 35 ml, durée 2 secondes, toutes les minutes).

a - Machines comburant une cigarette.

On en distingue 2 types principaux (400).

1 - machines fonctionnant à volume constant : le volume de la bouffée produite est constant, mais sa durée varie.

2 - machines fonctionnant à durée constante.

En effet, et tout particulièrement lorsqu'il s'agit de cigarettes avec filtre, il y a des modifications de la force d'aspiration et le volume ou la durée de la bouffée peuvent varier.

Mais actuellement, de nouvelles machines automatiques peuvent fournir des bouffées de volume et de durée constants.

La machine la plus largement utilisée aux Etats-Unis fut celle de BRADFORD & Coll. (1936) (American Tobacco Company Machine) (48). Elle tire une bouffée par cigarette toutes les 58 secondes, avec le volume dont a convenu l'opérateur.

La bouffée est aspirée grâce à la dépression provoquée par une colonne d'eau.

L'inconvénient est que la durée de la bouffée peut varier, particulièrement lors d'emploi d'un filtre, l'aspiration se faisant plus difficile.

Des machines semblables, avec de plus ou moins importantes modifications ont ensuite été créées.

Celle de TOUEY (368) est similaire dans son fonctionnement à celle de BRADFORD & Coll. Elle tire une bouffée de 35 ml en 2 secondes, au rythme de une bouffée par minute. L'aspiration est créée par une colonne d'eau de 35 ml (schéma). Une série d'électrovalves permettent, à des temps fixés, le remplissage et la vidange de la colonne d'eau (schéma).

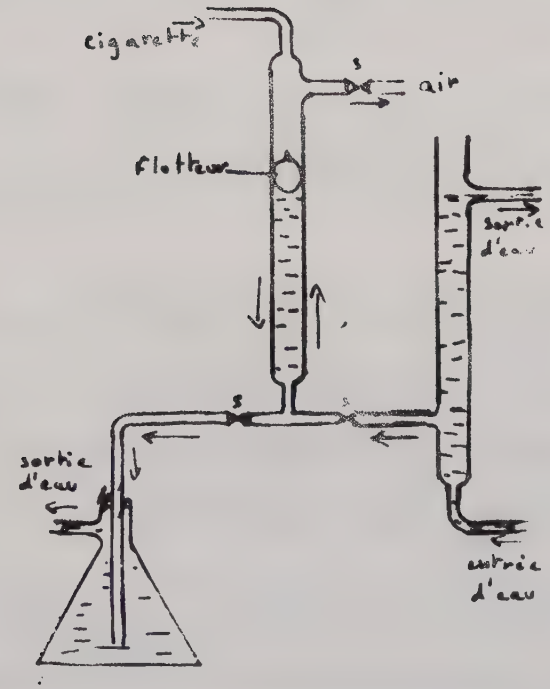
MUMPOWER & Coll. (274) décrivent une machine produisant aussi des bouffées de 35 ml, en 2 secondes, mais, au lieu d'utiliser une colonne d'eau pour obtenir la dépression, ils emploient un réservoir maintenu à une certaine pression par une pompe à vide.

La durée et le volume de la bouffée sont déterminés par un orifice réglable entre le solénoïde et le réservoir à vide et par une électrovalve. La valve est ouverte pendant 2 secondes chaque minute, permettant la formation de la bouffée.

De nombreux autres types de machines destinées à produire la fumée ont été décrits, intégrés dans un système d'administration à l'animal et seront ainsi étudiés dans le chapitre correspondant.

b - <u>Machines comburant simultanément plusieurs cigarettes</u>

Ce type de machine a été rendu nécessaire pour obtenir du "goudron" de tabac, en particulier pour les études chi-



Machine à Fumer
de TOUEY (367)

miques ou biologiques : une grande quantité de condensat étant nécessaire, de nombreuses cigarettes devaient être consumées par jour.

Ces appareils doivent conserver les conditions standard établies, afin de continuer à simuler la façon de fumer de l'homme.

Les deux premiers types furent ceux de SCHUR & RICKARDS en 1957 et de WYNDER & WRIGHT en 1957 (400).

La machine à fumer de WYNDER & WRIGHT (408) fumait 150 cigarettes à la fois, employant une seule bouffée de grand volume.

Le volume moyen d'une bouffée par cigarette était de 35 ml. Les cigarettes étaient fumées jusqu'à un mégot de 25 mm $\pm$ 5 de longueur. La fumée était ensuite condensée dans des flacons immergés dans la glace.

D'autres appareillages sont décrits dans la littérature, qui fument simultanément plusieurs cigarettes, en particulier celui de SEEHOFER & Coll. (340 - 341) : il peut "fumer" 30 cigarettes.

ELMENHORST (111 - 113) décrit une machine à fumer automatique pour la production de grandes quantités de condensat de fumée. L'appareil doit "fumer" 1 000 cigarettes par jour et présenter les avantages suivants :

- elle peut être manipulée par des personnes non spécialisées, après un court temps d'entraînement,
- elle travaille avec sécurité et précision.

Le nettoyage et réassemblage peuvent être faits en

peu de temps.

La machine à fumer de ELMENHORST (113) est totalement automatique, contrôlée grâce à un circuit électrique, elle fonctionne dans des conditions "standard".

Des machines pour fumer la pipe furent aussi construites.

ELMENHORST & Coll. (114), en particulier, donnent une revue des publications concernant ce problème.

Là aussi, les appareillages doivent simuler les conditions du fumeur de pipe (49 - 114).

On adopte les paramètres suivants :

- fréquence des bouffées : 6 par minute
- volume des bouffées : 40 ml
- durée d'une bouffée : 1,5 seconde
- nombre total de bouffées : 100 bouffées par pipe (114).

De même, TRIKER & BENK (369) décrivent une machine capable de fumer des cigarettes et des cigares.

2 - Fumée filtrée

Différents types de filtres ont été utilisés dans le but :

- d'étudier la rétention de certains éléments de la fumée par un filtre donné,
- de comparer l'effet de la fumée de cigarette brute et de la fumée filtrée dans le cadre d'une expérimentation (en

vue d'une diminution de la ciliotoxicité ou de l'effet cancérigène (33).

Les filtres les plus fréquemment utilisés furent :

- les filtres en acétate de cellulose (16),
- les filtres en charbon de bois (59 - 391),
- les filtres en charbon activé (33),
- les filtres combinant acétate de cellulose et charbon active (33).

Les filtres à charbon de bois :

D'après DALHAM (78), ils retiennent seulement très peu de goudron (19,4 mg par kg), mais ils diminuent beaucoup le contenu en isoprène (9 γ x 10^{-1} par cigarette), (dans une cigarette sans filtre : contenu en goudron 20,3 mg par kg, et en isoprène 56 γ x 10^{-1} par cigarette).

Les filtres à acétate de cellulose :

Ils réduisent à 12 mg par kg le contenu en goudron, mais n'affectent presque pas la concentration en isoprène.

Pour AUERBACH & Coll. (16), ce type de filtre diminue le goudron de 49 % et la nicotine de 37 %, par comparaison avec les cigarettes sans filtre.

Quant aux filtres à acétate de cellulose et charbon de bois, ils retiennent à la fois (78) le goudron et l'isoprène. La quantité de goudron tombe de 20,3 mg à 14,6 mg par kg et celle de l'isoprène de 56 à 8 γ x 10^{-1} par cigarette.

3 - Constituants de la fumée

a - le condensat

WYNDER & HOFFMAN (400) distinguent 3 méthodes pour obtenir la phase particulaire :

1 - les filtres
2 - la précipitation électrostatique
3 - les systèmes à refroidissement.

Il est nécessaire, lors d'une expérience, de connaître le procédé utulisé, la composition du condensat pouvant varier selon les techniques.

C'est ainsi que la phase particulaire obtenue par filtration à travers des matières inertes comporte les particules de l'aérosol et des composants de la phase vapeur, arrêtés à température ambiante par le filtre.

Si l'on travaille à une autre température ou dans des conditions différentes, on devra mentionner ces facteurs lorsque l'on parlera de "phase particulaire" (382 - 400).

La séparation entre phase particulaire et phase gazeuse semble donc assez arbitraire puisque certains éléments peuvent se trouver, selon les conditions de travail, dans l'une ou l'autre phase.

TOUEY (368) utilise un disque de papier filtre imprégné d'amiante. Il rapporte que plus de 99 % des particules sont ainsi retenues.

En 1957, KEITH & NEWSOME (in 382) décrivent un système pour collecter la phase particulaire : un récipient

en verre rempli de cellulose est refroidi par immersion dans un bain de neige carbonique-acétone (environ - 70°C). Les vapeurs, dans ces conditions, sont aussi bien retenues que les particules, ainsi que la vapeur d'eau présente dans l'air et des vapeurs facilement condensables présentes dans l'atmosphère du laboratoire. Il faut donc corriger ceci, qui représente environ 10 % du poids de la fumée collectée.

WARTMANN & Coll. (382) introduisirent le filtre Cambridge à fibre de verre : il est fait d'une feuille de 1,5 mm environ d'épaisseur, qui retiendrait plus de 99,9 % des particules dont le diamètre est supérieur à 0.3 micron. C'est une méthode simple et rapide. L'augmentation de la résistance à l'aspiration (due à l'amas des particules) étant limitée, les caractéristiques des bouffées ne sont pas modifiées et 5 cigarettes par filtre peuvent être "fumées".

L'utilisation de filtres à substances inertes, tel le filtre en fibre de verre, type Cambridge, sert surtout pour des analyses chimiques.

Son emploi, pour des expériences biologiques, est moins fréquent en raison de la faible quantité de condensat produite et du fait que ce "goudron" pourrait contenir des fibres de verre (rôle irritant intervenant dans le processus cancérigène ?).

- <u>La méthode par précipitation électrostatique</u> :

Elle permettrait la collection ininterrompue de particules pendant beaucoup plus longtemps que par la méthode du filtre de Cambridge.

- Systèmes à refroidissement :

Le condensat peut aussi être obtenu par "piégeage" dans des systèmes à basse température :

- grâce à un mélange neige carbonique-acétone (227 - 362).

- grâce à de l'azote liquide.

Mais NEURATH & Coll. (in 400) démontrèrent que, dans ces systèmes de refroidissement, l'oxyde nitreux réagissait avec certaines amines secondaires pour former des nitrosamines cancérigènes (cette réaction ne survenant pas dans la fumée fraîche).

Une fois le condensat obtenu, celui-ci peut être fractionné comme on l'a vu plus haut (404 - 408) et ses diverses parties utilisées et testées.

b - Phase gazeuse

Pour FALK & Coll. (124) la phase gazeuse est ce qui reste lorsque la fumée a été filtrée aussi efficacement que possible (78).

TOUEY en 1955 (368) rapporte une technique pour isoler la phase gazeuse. Il utilise un filtre fait de papier spécialement traité, imprégné de fines fibres d'amiante, qui serait capable de retenir les particules de 0,1 à 1 micron. Il retiendrait plus de 99 % des particules.

En fait, tous les auteurs ont convenu de définir la phase gazeuse comme étant la partie de la fumée passant au travers d'un filtre Cambridge CM 113, à fibre de verre, la phase particulaire étant retenue par le filtre (287) (sont retenues

les particules dont la taille est supérieure à 0,1 micron).

C'est ainsi que KENSLER & BATTISTA (198 - 200) utilisent ce type de filtre.

D'après DALHAM (78) l'emploi d'un filtre de Cambridge réduirait la quantité de goudron de 20,3 mg par kg à 0,5 mg par kg. Mais le contenu en isoprène tombe seulement de 56 $\gamma \times 10^{-1}$ par cigarette à 40 $\gamma \times 10^{-1}$.

c - Phase hydrosoluble

Emploi de la fumée de cigarette sous forme de solution.

Certains auteurs ont utilisé la phase hydrosoluble de la fumée. SAINDELLE & Coll. (332) décrivent l'appareillage utilisé (schéma) : la fumée est produite sous forme de bouffées de 30 à 35 ml (durée 2 secondes, fréquence 1 par minute). Grâce à une dépression constante réalisée à l'aide d'une trompe à eau, la durée et la fréquence des bouffées sont réglées au moyen d'un électro-aimant commandé par un système électronique. La fumée est filtrée (filtres micro-poreux "Cambridge" Glass fibre CM 113) puis barbote dans deux flacons placés en série et contenant chacun 10 ml de liquide de Tyrode : ce liquide contient les constituants hydrosolubles de la fumée de cigarette.

YEAGER (410) utilise une machine à fumer comportant aussi un filtre type Cambridge CM 113, afin de séparer la phase gazeuse de la façon suivante : 3 bouffées de 35 ml sont prélevées. Chacune dure 2 secondes avec un intervalle de 58 secondes. Les bouffées sont collectées dans 2 ballons contenant 8 ml de

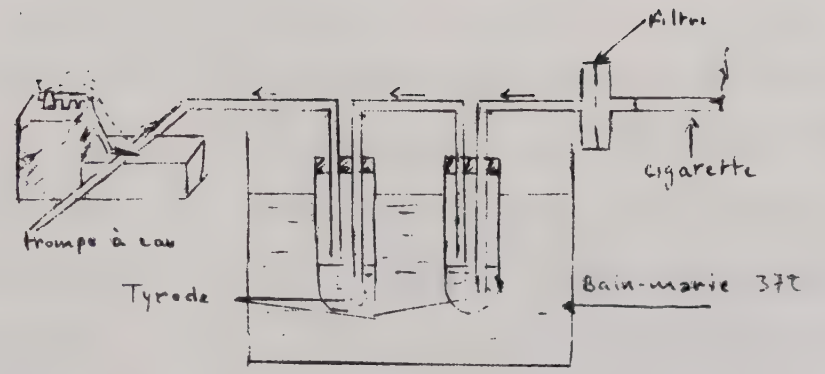


Schéma de l'appareillage utilisé par SAINDELLE et Coll. (332) pour préparer la phase hydrosoluble de la Fumée

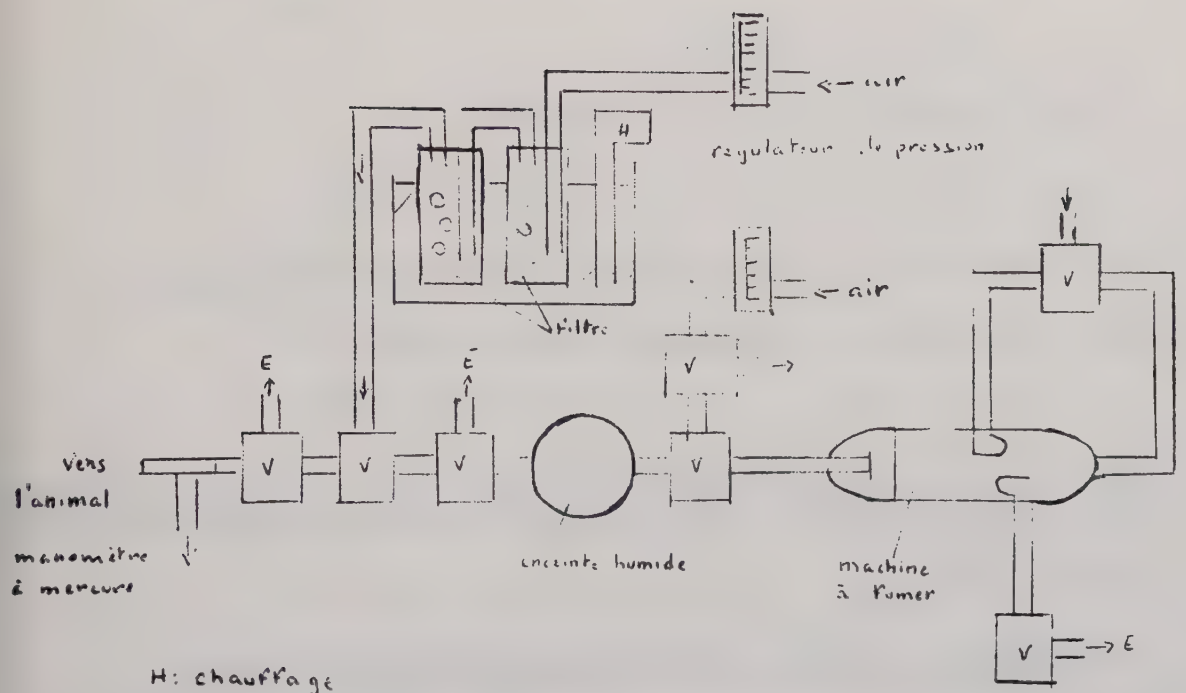
solution de Hanks, puis la fumée est mélangée avec le liquide par agitation durant 45 secondes. La solution obtenue est gardée dans des récipients bouchés, dans la glace, et utilisée dans les 2 heures suivant sa préparation.

Emploi de fumée privée de ses éléments hydrosolubles

KAMINSKI & Coll. (195) étudient les effets ciliostatiques de la fumée totale, de la phase particulaire, de la phase gazeuse, après passage dans une "chambre humide" (schéma). Celle-ci est de forme sphérique (105 cc de volume) et contient des morceaux de papier filtre. Durant l'expérience, une solution de composition semblable à la salive passe sur les papiers. Les composés hydrosolubles présents dans la fumée de cigarette sont adsorbés par le papier humide. Avant son entrée dans la machine à fumer, l'air est purifié par passage dans une colonne asséchante, puis dans une série de filtres contenant une solution de permanganate de potassium. Trois voies conduisent à la machine à fumer. La première (débit 1,7 l/mn), produit en 2 secondes une bouffée de cigarette. La seconde sert à purger l'enceinte humide de la fumée pouvant persister après l'administration de la dose convenable. Enfin, la troisième apporte de l'air frais à l'animal entre les bouffées. Le cycle de la machine est exactement de 60 secondes et est contrôlé par un mécanisme d'horlogerie.

d - Elements du condensat ou de la phase gazeuse

Certains éléments, dans le cadre d'expériences sur la ciliotoxicité, oule pouvoir cancérigène du tabac par exemple, ont été utilisés :



H: chauffage
V: électrovalves
E mise à l'air libre

Machine à fumer. Appareillage décrit par KAMINSKI et coll (195)

- des éléments du condensat :

hydrocarbures : le 3-4 benzopyrène surtout

aldéhydes

phénols

- des éléments de la phase gazeuse :

acide cyanhydrique

acroléine

acétaldéhyde

On verra l'importance du mode d'administration de la substance (suspension - solution - solvant).

D - Administration de la fumée ou de ses constituants à l'animal d'expérience

1 - Méthodes - Rappel de l'inhalation chez l'homme

Les méthodes utilisées pour administrer la fumée de tabac ou ses divers constituants dépendent de nombreux facteurs, en particulier :

- de la forme sous laquelle se présente la substance utilisée (fumée brute - condensat - solution ...),

- du système biologique utilisé (système in vitro, système in vivo),

- de l'espèce animale utilisée (taille, structure trachéo-bronchique),

- du but recherché (études des effets pharmaco-dynamiques, études histo-pathologiques).

Si l'on veut, à partir de l'expérimentation, tirer des

conclusions applicables à l'homme, il est évident que les méthodes employées devront, dans toute la mesure du possible, tenter de reproduire les conditions dans lesquelles se trouve le "fumeur". C'est ainsi que l'administration de fumée de cigarette par inhalation est la méthode la plus satisfaisante mais sa mise au point chez l'animal présente de grandes difficultés (300).

Rappel de l'inhalation chez l'homme :

L'homme inhale la fumée par la bouche. DALHAMN& Coll. (82) insistant sur l'importance de l'utilisation de conditions expérimentales physiologiques lors d'études sur la toxicité de la fumée de cigarette chez l'animal, déterminent l'absorption chez l'homme, par la muqueuse buccale, de certains éléments de la fumée de cigarette. Les études ont porté sur la phase particulaire et certains composés volatiles. La fumee est administrée au moyen d'une machine à doser la fumée (35 ml en2secondes, chaque minute, sous une pression d'environ 3 cm d'eau au-dessus de la pression atmosphérique). Immédiatement après l'administration, le sujet rejette la fumée afin d'en recueillir les composés (pression d'expiration : 6 cm d'eau). La fumée n'était pas inhalée et ne restait jamais plus de 2 secondes dans la bouche.

La quantité des différents composants recueillis était déterminée par chromatographie en phase gazeuse et fluorométrie.

L'absorption était plus grande pour les composés hydrosolubles (60 %) que pour les composés insolubles (20 %) (tableau).

16 % de la phase particulaire étaient retenus par la muqueuse buccale :

	Rétention
Composés hydrosolubles :	
acétaldéhydes	60 %
acétone	56 %
acétonitrile	74 %
Composés non solubles :	
isoprène	20 %
toluène	29 %

On voit donc que, si l'on court-circuite les mécanismes naturels de défense en exposant directement l'organe testé, on peut obtenir des résultats expérimentaux peu ou pas significatifs.

L'homme inhale donc la fumée (35 ml en moyenne par bouffée), qui atteint les poumons avec environ 200 à 500 ml d'air. La dilution de la fumée est faible à la partie supérieure de la trachée, en début d'inhalation ; elle augmente quand la fumée atteint les parties distales de l'arbre pulmonaire.

Le temps de contact entre la fumée peu diluée et la partie supérieure de la trachée est très court, mais il augmente, ainsi que la dilution, avec la progression de la fumée.

Le "vrai fumeur" inhale profondément la fumée qui atteint les poumons. Pour MITCHELL, la rétention des particules est de 20 à 50 % lorsque la fumée n'est pas inhalée

et reste dans la cavité buccale (contre 16 %, on l'a vu, pour DALHAM). Si la fumée est retenue dans les poumons durant 5 secondes, la rétention atteint 82 % et près de 97 % pour 30 secondes. D'après WYNDER & HOFFMANN (395), la rétention de la phase particulaire serait de 90 % lors d'une inhalation profonde.

Il faut tenir compte aussi de la durée d'exposition : dans le cas du fumeur, l'exposition à l'agent nuisible dure plusieurs années (une vingtaine en moyenne).

Des études ont été entreprises chez l'homme pour déterminer les habitudes tabagiques et tracer, en quelque sorte, le "portrait robot du fumeur". Mais il ressort de ces études une grande variabilité dans la façon de fumer d'un fumeur à l'autre.

Durée des bouffées :

Elle est en moyenne de 2 secondes (170 - 400), 1,9 secondes pour MITCHELL (1962).

Fréquence des bouffées :

Elle est variable. On compte en moyenne 1 à 2 bouffées par minute (400).

Nombre de bouffées par cigarette :

Pour 1 cigarette, le nombre de bouffées aspirées varie de 2 à 22 pour un groupe de 27 sujets, étudié par HILDING (170). Le nombre moyen est de 9,9, et en général les auteurs conviennent de 9 à 10 bouffées par cigarette.

Longueur du mégot :

En moyenne, elle atteint 36,25 mm selon HILDING (170). En fait, la plupart des auteurs adopte une longueur moyenne de 23 mm.

Volume des bouffées :

De grandes difficultés furent rencontrées pour évaluer le volume moyen des bouffées.

On peut obtenir une valeur moyenne en tenant compte :

- de la durée pendant laquelle la cigarette est allumée,
- du nombre moyen de bouffées aspirées,
- de la fréquence moyenne des bouffées,
- de la longueur du mégot,
- du type de cigarette utilisée.

On peut modifier le volume des bouffées produites par une machine à fumer. Le volume moyen sera celui obtenu avec les valeurs moyennes admises pour les autres paramètres (400).

On considère qu'il est environ de 35 ml (89).

WYNDER & HOFFMANN (400) ont aussi relevé dans la littérature les valeurs moyennes de volume, fréquence et durée des bouffées, obtenues à partir de pipe et de cigare.

On peut ainsi résumer la façon de fumer "moyenne" :

	Cigarette	Cigare	Pipe
Durée des bouffées	2 secondes	2 secondes	2 secondes
Fréquence : bouffées par minute	1 à 2 b./mn	1 à 5 b./mn	2 à 5 b./mn
Nombre de bouffées par cigarette	9 à 10		
Longueur du mégot	23 mm	20 à 47 mm	
Volume des bouffées	35 ml	35 à 45 ml	35 à 50 ml

La meilleure méthode consisterait ainsi à faire

fumer un animal comme l'homme fume (des expériences utilisant le singe ont été tentées et son comportement vis-à-vis de la cigarette étudié (192). Il ne peut être malheureusement question d'utiliser cet animal dans le cadre d'expérience sur les effets nocifs du tabac).

En fait, on relève dans la littérature de nombreuses manières pour administrer la fumée ou ses éléments :

- inhalation :
  - indirecte : en chambre d'inhalation
  - directe : par trachéotomie
    - par l masque
    - par voie nasale
    - par la bouche.
- par badigeonnage bronchique,
- par injection intra-pulmonaire, intratrachéale.

2 - Inhalation

a - Chambres d'inhalations

L'inhalation peut se faire en atmosphère de fumée au moyen d'une chambre d'exposition. L'animal respire en milieu enfumé. C'est une méthode passive et indirecte.

L'appareillage comprend une enceinte contenant le ou les animaux et une machine produisant la fumée (théoriquement dans des conditions standard : 1 bouffée par minute, durant 2 secondes, de 35 ml de volume, longueur du mégot 23 mm).

Cette méthode comporte de nombreux inconvénients et l'on verra, en passant en revue certains types de chambre d'exposition, que l'on a tenté de modifier l'appareillage afin

d'approcher les conditions physiologiques.

On peut noter que ce système ne réalise pas les conditions d'inhalation du fumeur, mais plutôt la situation d'une personne placée dans une pièce enfumée (145 - 300).

L'animal respire au moyen de son appareil respiratoire entier : la fumée est donc inhalée principalement par le nez (77), à la différence du fumeur qui l'inhale par la bouche (et on a vu l'importance de l'absorption buccale de certains éléments de la fumée chez l'homme : DALHAM & Coll. (82). Les particules peuvent être retenues par les voies nasales (système de filtration nasale remarquable chez certains rongeurs). HILDING (100, p. 123) a étudié la filtration de la fumée de cigarette par le nez chez les animaux d'expérience : 30 à 40 % de la fumée y serait retenue.

La fumée atteignant les poumons peut ainsi différer considérablement de cette inhalée par la bouche (41 - 77) et seule une faible quantité atteint les poumons après passage préalable dans la cavité buccale.

La fumée atteignant l'animal ne provient pas directement de la cigarette, mais a parcouru une certaine distance entre la machine à fumer et la cage. Il peut ainsi se produire une absorption de certains éléments de la fumée (les plus lourds) sur les parois du dispositif (145 - 77).

Le pelage des animaux est aussi imprégné par les produits de la fumée, qui seront souvent absorbés par voie buccale car l'animal se lèche volontiers (300).

Bien que l'on s'efforce de maintenir constante la température de l'enceinte, un certain refroidissement de la

fumée peut survenir entre le moment de son entrée dans la cage et celui de sa sortie. Les caractéristiques d'un aérosol étant, dans une certaine mesure, affectées par de tels facteurs, les effets physiologiques pourront différer dans les différentes parties de la cage (77).

De plus, certains systèmes exposent continuellement l'animal à la fumée, sans inhalation d'air entre les bouffées, au contraire des fumeurs (300 - 77).

D'autres difficultés ont aussi été rencontrées :

- certains animaux "refusent" d'inhaler la fumée et ne respirent que de loin en loin, bloquant volontairement leur appareil respiratoire (210).

- certaines espèces sont extrêmement sensibles à la fumée.

Il se pose ainsi, lors des expériences par inhalation "passive", la question de savoir jusqu'à quel point la fumée de tabac pénètre dans les poumons des animaux. HOLLAND & Coll. (180), exposèrent des lapins à la fumée de 3 cigarettes imprégnées de 100 microcuries d'AS^{74} radioactif. La distribution de la radioactivité fut observée au bout de 2 heures dans le système respiratoire, ce qui permit de prouver que les lapins avaient inhalé la fumée.

LEUCHTENBERGER & Coll. (d'après WYNDER & HOFFMANN 400) étudièrent la concentration de CO dans le sang de souris exposées à la fumée et de souris témoins. Le taux d'oxyde de carbone était supérieur chez les souris exposées. Les auteurs conclurent que les aérosols de fumée étaient inhalés. Cependant, si cela prouve que les gaz sont inhalés par les souris, aucune information concernant les substances particulaires n'est ap-

portée.

Les chambres d'inhalation

Les premières expériences d'inhalation furent réalisées par LORENZ & Coll. (248) et ESSENBERG (119).

Ils tentèrent d'exposer des animaux (souris) à un produit de combustion frais, afin d'en étudier les effets biologiques.

Les appareils actuels ont beaucoup bénéficié de ces travaux antérieurs (400).

ESSENBERG, en 1952, (119) mit au point une machine à fumer dont le but était d'exposer des souris de la souche A (tendance héréditaire à l'apparition de tumeurs pulmonaires) pendant longtemps (14 mois) à la fumée de cigarette, afin d'en étudier les effets sur l'incidence des néoplasmes pulmonaires primitifs.

Cet appareil comprenait :

- une enceinte où les animaux étaient placés,
- un support rotatif comportant 12 cigarettes,
- un système électrique automatique d'allumage de la cigarette, relié à un système d'horlogerie qui allume une cigarette chaque heure, pendant 12 heures par jour,
- une pompe à vide créant une aspiration juste suffisante pour faire brûler la cigarette et faire circuler l'air frais à travers les chambres contenant les souris d'expériences et les témoins.

La combustion d'une cigarette nécessitait 3 à 4 minut

fumée peut survenir entre le moment de son entrée dans la cage et celui de sa sortie. Les caractéristiques d'un aérosol étant, dans une certaine mesure, affectées par de tels facteurs, les effets physiologiques pourront différer dans les différentes parties de la cage (77).

De plus, certains systèmes exposent continuellement l'animal à la fumée, sans inhalation d'air entre les bouffées, au contraire des fumeurs (300 - 77).

D'autres difficultés ont aussi été rencontrées :

- certains animaux "refusent" d'inhaler la fumée et ne respirent que de loin en loin, bloquant volontairement leur appareil respiratoire (210).

- certaines espèces sont extrêmement sensibles à la fumée.

Il se pose ainsi, lors des expériences par inhalation "passive", la question de savoir jusqu'à quel point la fumée de tabac pénètre dans les poumons des animaux. HOLLAND & Coll. (180), exposèrent des lapins à la fumée de 3 cigarettes imprégnées de 100 microcuries d'AS^{74} radioactif. La distribution de la radioactivité fut observée au bout de 2 heures dans le système respiratoire, ce qui permit de prouver que les lapins avaient inhalé la fumée.

LEUCHTENBERGER & Coll. (d'après WYNDER & HOFFMANN 400) étudièrent la concentration de CO dans le sang de souris exposées à la fumée et de souris témoins. Le taux d'oxyde de carbone était supérieur chez les souris exposées. Les auteurs conclurent que les aérosols de fumée étaient inhalés. Cependant, si cela prouve que les gaz sont inhalés par les souris, aucune information concernant les substances particulaires n'est ap-

portée.

Les chambres d'inhalation

Les premières expériences d'inhalation furent réalisées par LORENZ & Coll. (248) et ESSENBERG (119).

Ils tentèrent d'exposer des animaux (souris) à un produit de combustion frais, afin d'en étudier les effets biologiques.

Les appareils actuels ont beaucoup bénéficié de ces travaux antérieurs (400).

ESSENBERG, en 1952, (119) mit au point une machine à fumer dont le but était d'exposer des souris de la souche A (tendance héréditaire à l'apparition de tumeurs pulmonaires) pendant longtemps (14 mois) à la fumée de cigarette, afin d'en étudier les effets sur l'incidence des néoplasmes pulmonaires primitifs.

Cet appareil comprenait :

- une enceinte où les animaux étaient placés,
- un support rotatif comportant 12 cigarettes,
- un système électrique automatique d'allumage de la cigarette, relié à un système d'horlogerie qui allume une cigarette chaque heure, pendant 12 heures par jour,
- une pompe à vide créant une aspiration juste suffisante pour faire brûler la cigarette et faire circuler l'air frais à travers les chambres contenant les souris d'expériences et les témoins.

La combustion d'une cigarette nécessitait 3 à 4 minut

LEUCHTENBERGER (239) utilisa une modification de l'appareil construit par ESSENBERG .

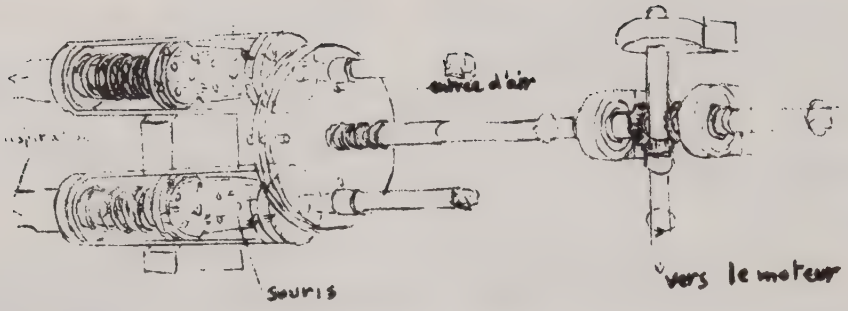
Au moyen d'une pompe à vide, l'air est aspiré dans la chambre d'inhalation et la chambre des animaux témoins (souris cF_1). Ces deux enceintes sont séparées par une paroi de plastique.

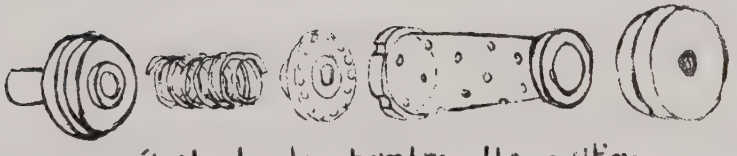
A intervalles choisis, une horloge électrique fait avancer le disque, amenant les cigarettes en position de combustion. Les volumes d'air passant dans chaque chambre, ainsi que les pressions étaient fixés préalablement.

Cet appareil permettait d'exposer les animaux d'expériences et les témoins, durant le même temps et dans les mêmes conditions standardisées. Les souris inhalaient jusqu'à 8 cigarettes par jour, durant un temps variable (de 11 à 20 jours).

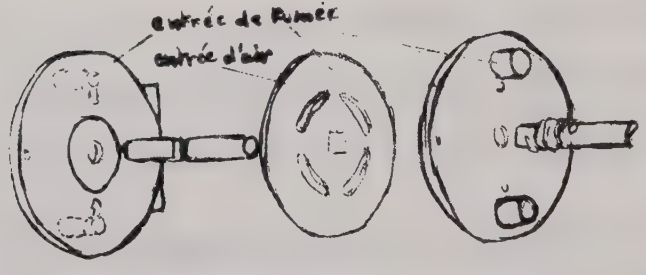
L'appareil de LEUCHTENBERGER fut critiqué par DALHAMN(92), qui en précisa les inconvénients (ils sont, en gros, communs à toutes les chambres d'inhalation et ont été étudiés précédemment).

Pour tenter d'y remédier, MOORE & BOCK (271) mirent au point un appareil individuel, de façon à exposer la souris à la fumée d'aussi près que possible du mégot de la cigarette (schéma). Les auteurs critiquèrent cependant cet appareil : la fumée est inhalée par les narines, l'effet de cette agression sur l'animal, associé au fait d'être placé dans une enceinte et exposé à des bouffées de fumée ne peut permettre de contrô-





détail de la chambre d'exposition



Machine à fumer de MOORE et Coll. (271)

(bouffées de 2 sec., toutes les minutes)

ler parfaitement l'inhalation, même en exposant les souris durant des périodes similaires.

HOLLAND & Coll. (182), s'inspirant de l'appareillage précédent (exposant une souris dans un cylindre de plastique à la fumée de cigarette), employèrent des chambres d'inhalation pour lapins, individuelles (schéma). L'aspiration d'une bouffée par une pompe à vide à travers l'enceinte était contrôlée par une électrovalve.

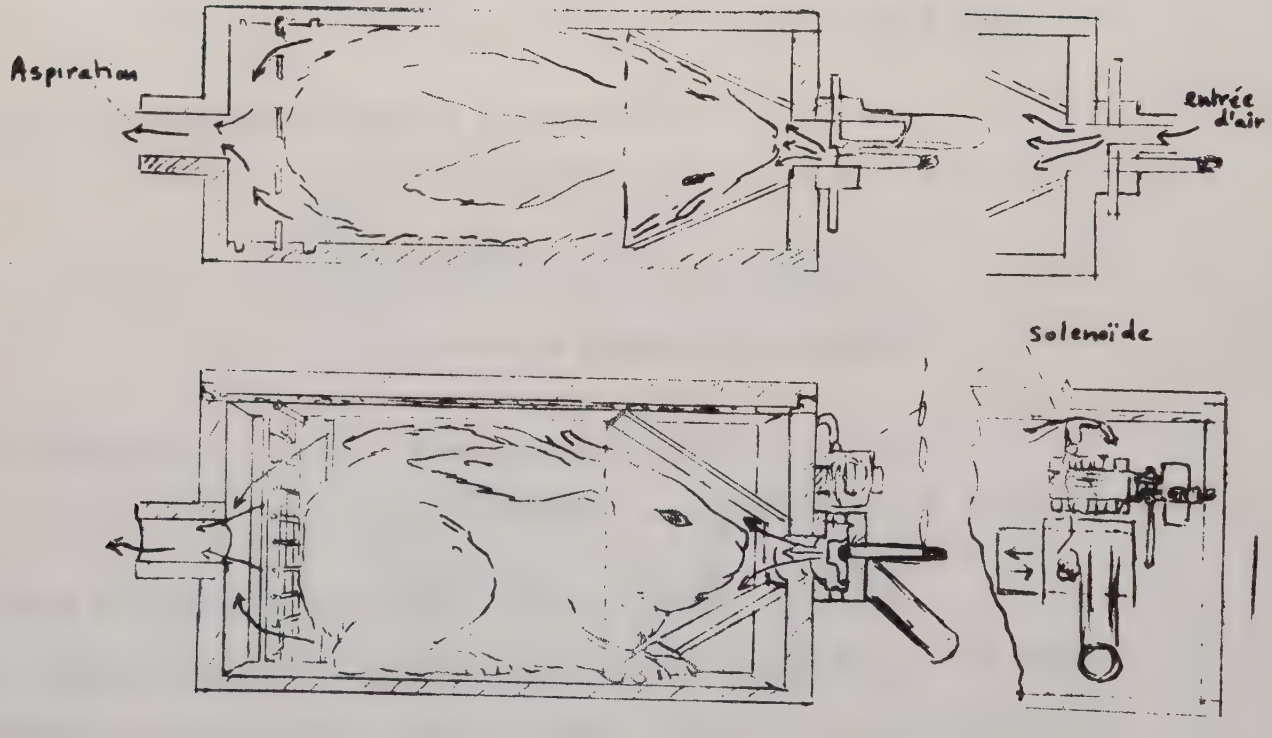
La tête du lapin était maintenue appliquée contre l'ouverture par laquelle entre la fumée.

Des bouffées de 30 à 60 cc, durant 2 secondes, étaient administrées chaque minute.

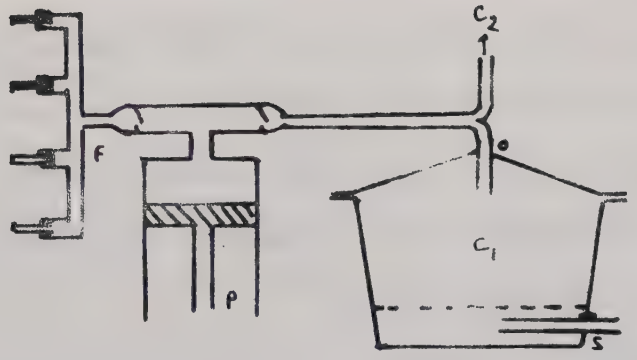
Certains lapins (les "bons fumeurs") pouvaient être exposés à la fumée de 20 cigarettes par jour.

En 1959, GUERIN (145) décrit un dispositif ayant pour but de réaliser les conditions d'un séjour constant dans une atmosphère dense de fumée de tabac chez le rat (schéma). Les animaux sont placés dans 2 cages étanches en plastique C_1 et C_2. La fumée de cigarette est injectée par les orifices supérieurs O et évacuée par l'orifice S. Le volume des bouffées aspirées est de 30 ml. Le cycle complet est réalisé en 5 secondes : 2 pour le temps d'aspiration et 3 pour le temps de refoulement. Les cigarettes , au nombre de 4, sont placées sur un fume-cigarette. La combustion se fait en 3 minutes.

HAAG & Coll. (157) décrivent une machine prélevant 420 ml de fumée à partir de 12 cigarettes toutes les minutes. 5 secondes après, la fumée est introduite dans la chambre d'inhalation qui contient 12 rats. La dilution de la fumée



Chambre d'inhalation de HOLLAND et coll. (182)



F : Fume-cigarette commercial à 4 embouts
P : Pompe
C_1, C_2 : cages en plastique
O Orifice supérieur d'arrivée du flux de fumée
S : Orifice supérieur de sortie du flux de fumée

Dispositif pour enfumer des rats d'après GUERIN (1965)

atteint 1 pour 40, durant environ 33 secondes.

Un groupe d'animaux est exposé à 10 bouffées environ de fumée, chaque 1/2 heure, 14 fois par jour.

Cette machine utilise un conduit très court entre la machine à fumer et la chambre d'inhalation et ainsi la perte en particules est réduite. C'est ce qui fait l'intérêt de ce genre d'appareillage.

En 1963, ALEXANDROV & RAICHEV (4) soumirent 180 rats à l'inhalation de fumée de cigarette, pendant des périodes allant jusqu'à un an.

Ils utilisaient un dispositif permettant de fumer une cigarette en 10 minutes, pendant que les animaux étaient alternativement exposés à la fumée pendant 5 à 6 secondes, et à l'air frais pendant 8 à 10 secondes. Les expositions étaient de 2 à 3 cigarettes par jour.

OTTO (294) expose des souris à une inhalation passive indirecte durant au moins 12 mois. Les animaux sont exposés à la fumée de 12 cigarettes durant 60 à 90 minutes par jour, dans une enceinte de 400 l de volume.

Pour la combustion des cigarettes, il utilise un système simple : la pression à l'intérieur de la chambre d'inhalation est abaissée, créant ainsi un appel d'air à travers la cigarette.

DONTENWILL (cité par WYNDER & Coll. (400)), utilisa un système fonctionnant dans des conditions dites "standard".

L'enceinte contient 10 hamsters. Une dépression cor-

respondant à 35 ml est réalisée grâce à une pompe à vide, en 2 secondes, chaque minute.

Après la combustion d'une cigarette, de l'air frais est ventilé dans l'enceinte durant 3 minutes. 10 cigarettes sont ainsi consumées chaque jour. L'inconvénient majeur de cet appareillage est que les animaux se trouvent à plusieurs dans l'enceinte.

DONTENWILL exposa alors 8 hamsters dans des compartiments individuels, de telle façon que le museau des animaux se trouve orienté vers le centre de la chambre d'exposition.

DONTENWILL & Coll. (105) avertis des inconvénients inhérents aux dispositifs précédents purent préciser les conditions à observer pour exposer les animaux à la fumée. Ces auteurs décrivirent en 1967 (106) un nouvel appareil à inhalation pour différentes espèces animales (exposition des animaux à de hautes concentrations de fumée, durant de longues périodes, sans risque vital pour l'animal).

La chambre d'inhalation mise au point par "The American Machine and Foundry Company" et "The Sloan Kittering Institute" (400) consiste en une enceinte de 70 l, dont la température et l'humidité sont contrôlées.

La fumée de tabac (comme d'autres gaz ou mélanges de gaz) peut être introduite dans l'enceinte.

Les cigarettes sont fumées au moyen d'une machine à piston. Chaque bouffée atteint directement la chambre d'inhalation. La fréquence des bouffées et leur volume peuvent être choisis. Chaque animal peut être isolé dans un compartiment

(18 pour les hamsters). On peut remplacer rapidement l'atmosphère de la chambre par de l'air frais.

Le problème restant est celui du vieillissement de la fumée, de l'accumulation des petites particules sur les parois.

L'appareil utilisé par SPURGASH & Coll. (353) consiste en une machine fumant plusieurs cigarettes à la fois et en un système associé pour l'allumage et la combustion des cigarettes (schéma). L'air servant à la combustion était filtré, humidifié avant son arrivée dans l'enceinte de combustion (cloche de verre montée sur une plaque d'aluminium).

Six rangées de 10 cigarettes sans filtre étaient montées verticalement dans des ouvertures faites dans la plaque. L'air aspiré au travers de chaque cigarette dans une rangée donnée passait dans une ouverture commune et à travers une électro-valve avant d'être dilué avec de l'air provenant aussi de la réserve d'air comprimé.

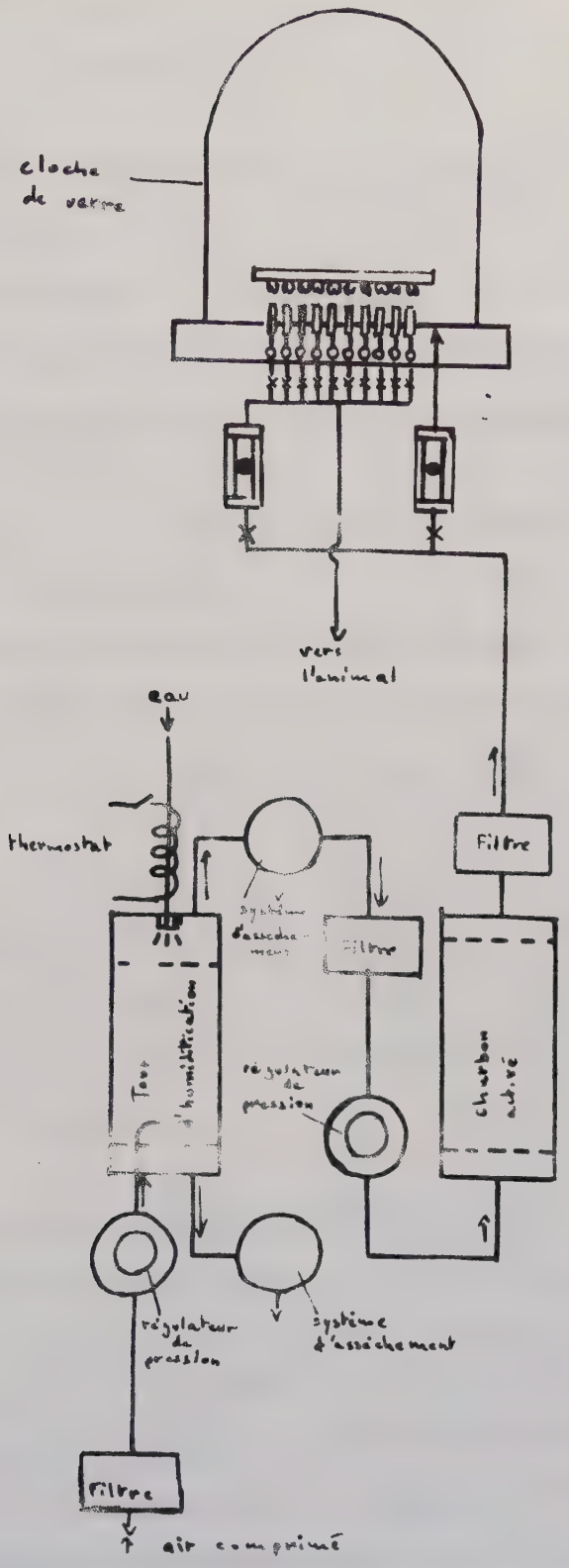
Après dilution, la fumée chargée d'air atteignait la chambre d'exposition abritant les souris. La combustion d'une cigarette durait environ 3 minutes.

La concentration de fumée était maintenue constante grâce à un système photo-électrique.

La chambre d'inhalation était en plastique rigide, transparent et les souris y étaient enfermées individuellement.

ROSENKRANTZ & SPRAGUE (324) utilisent deux appareils

- une machine type MRI,
- une machine type Walton.



Appareil à fumer de

SPURGASH et Coll (353)

Machine type MRI :

Elle est composée d'un système automatique, rempli avec une seringue de 50 ml, et un système de synchronisation contrôlant l'aspiration, pour fumer les cigarettes.

L'enceinte des animaux consistait en un bocal de verre dont le bouchon présentait un support pour un filtre (type Cambridge CM.113), avec un système pour fixer la cigarette. Quand on ne désirait que la phase gazeuse, le filtre était interposé entre le support et la cigarette.

Machine type Walton :

Elle permet l'allumage automatique de la cigarette. L'air est comprimé pour insuffler la fumée de cigarette dans une enceinte où elle est diluée avec de l'air avant son arrivée dans les cages des animaux.

Cette machine a été modifiée de façon à ce que la forme conique de chaque cage permette seulement l'exposition du nez et de la bouche des animaux. Ceux-ci sont placés horizontalement, les cages les contenant formant unangle droit avec la cigarette placée verticalement.

Les deux machines fournissaient une bouffée de 35 ml de durée de 2 secondes, à intervalles de 58 secondes.

L'appareil d'exposition à la fumée utilisé par RYLANDER (328) consiste en une cage spéciale où les animaux sont placés (cylindre en plexiglas). Au moyen d'un système d'aspiration fonctionnant électroniquement, une bouffée de fumée fraîche était aspirée durant 2 secondes et projetée dans le museau de l'animal. 10 bouffées étaient obtenues à partir de chaque cigarette. Les animaux recevaient une bouffée chaque minute et étaient exposés à la fumée pendant 2 secondes.

HOLMA (183) utilise un système dans lequel des lapins inhalent de la fumée fraîche (1,5 cc), sous narcose. Dans cet appareil, les derniers 1,5 cc des 25 cc des bouffées sont prélevés.

Les cigarettes utilisées sont des cigarettes à filtre en acétate de cellulose.

Les bouffées données durent 0,7 seconde et sont administrées au milieu d'une inspiration (à la différence de la méthode de DALHAMN où les bouffées sont reçues en début d'inspiration).

40 bouffées sont prélevées à partir d'une cigarette, durant 8 minutes.

Intervalle de 1 minute environ entre chaque cigarette.

L'avantage est, qu'avec cet appareil, de la fumée fraîche est apportée avec un système présentant une courte distance entre la cigarette et la cavité orale (2,5 cm).

b - Inhalation directe

Cette méthode permet d'administrer individuellement de la fumée de cigarette et d'éviter certains des inconvénients des chambres d'inhalation.

On peut utiliser :

- la trachéotomie,
- la voie nasale et/ou la voie buccale (masque, catheter nasal ...).

b-1 - Trachéotomie :

A la méthode utilisant la trachéotomie, on peut reprocher le fait que l'organe testé étant exposé directement, les mécanismes naturels de défense se trouvent court-circuités (les voies aériennes supérieures étant exclues) :

- l'humidification, la retenue d'une partie de la fumée et de ses constituants par la cavité buccale, le larynx et la partie supérieure de la trachée ne sont pas réalisées (à la différence de ce qui se passe chez le fumeur) (55).

Cependant, la distance entre la cigarette allumée et la muqueuse trachéale de l'animal permet à la fumée de se déposer en partie sur les parois du système d'administration utilisé, gardant ainsi une certaine similitude avec le fumeur.

Ce type d'expérience semblerait limiter les animaux auxquels on s'adresse : il faudrait en effet utiliser un animal de taille suffisante (chien ...), mais on relève, dans la littérature, l'emploi de la trachéotomie pour de petits animaux : cobaye en particulier (155).

Cette méthode, par insufflation directe de la fumée dans l'orifice de trachéotomie permet d'être sûr que la fumée atteint les poumons de l'animal.

AVIADO & Coll. (22 - 23) administrent de la fumée de cigarette chez le chien anesthésié, trachéotomisé, à l'aide d'une pompe délivrant un volume connu de fumée et sous une pression déterminée.

GUILLERM & Coll. (155) utilisent le cobaye trachéotomisé (curarisé ou à moelle coupée), placé en ventilation

artificielle. La fumée de cigarette et ses constituants sont administrés directement par la pompe à ventilation artificielle. La cigarette est placée à l'entrée de la pompe et le volume de chaque bouffée correspond au volume administré par la pompe (schéma).

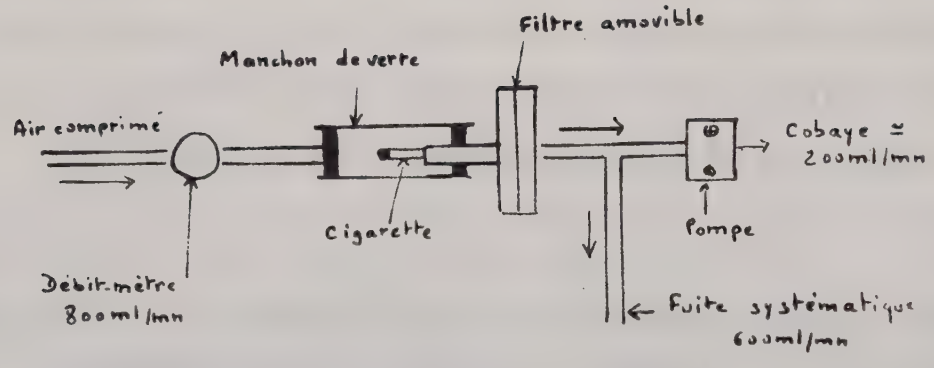
DALHAMN & RYLANDER (88 - 90), observant le mouvement ciliaire chez le chat anesthésié, utilisent aussi la trachéotomie pour administrer la fumée : la trachée est sectionnée juste au-dessous du larynx et connectée à un tube de verre de volume égal à celui de la cavité buccale du chat. Le tube de verre est chauffé à 37°C et l'intérieur humidifié. Une pompe respiratoire fournit l'air humidifié et la fréquence est ajustée à la fréquence respiratoire du chat.

La fumée est prélevée dans une seringue et des bouffées de 35 ml sont délivrées en 2 secondes et un certain volume en est immédiatement injecté dans l'ouverture du tube de verre lors du début de l'inspiration.

9 à 10 bouffées sont obtenues à partir de chaque cigarette. Une bouffée est administrée chaque minute. Les volumes injectés étaient de 0,5 à 1, 1,5, 10 et 20 ml.

Très intéressantes sont les expériences de AUERBACH & Coll. (14 - 15) : elles sont réalisées sur des chiens de race beagle, inhalant la fumée de cigarette par un tube de trachéotomie en téflon. Ils fument chaque jour, matin et après-midi, 7 jours par semaine durant 421 à 423 jours.

Le nombre de cigarettes fumées par jour augmente graduellement jusqu'à un maximum de 12 par jour.



Administration de la Fumée de cigarette filtrée

d'après GUILLERM et Coll. (155)

Les premières et deuxièmes bouffées sont délivrées d'une manière forcée puis la cigarette est fumée par une inhalation volontaire et profonde du chien. Le tube est clampé après 5 bouffées pour permettre à l'animal de respirer de l'air frais par la bouche ou les narines.

On note que les chiens deviennent coopératifs. Certains montrent même un plaisir évident à fumer. Ils inhalent tranquillement et régulièrement la fumée. La tolérance est bonne (313).

CAHAN & KIRMAN (55) décrivirent la machine à fumer permettant l'inhalation directe par trachéotomie chez le chien. Cette machine présente l'intérêt d'insuffler la fumée au chien ou bien de le laisser fumer spontanément.

b-2 - Inhalation au moyen d'un masque :

LUPU & VELICAN (251) soumirent des cobayes et lapins à des inhalations journalières de fumée de tabac selon une technique standard. On adaptait sur la tête de l'animal une moitié de poire en caoutchouc pourvue d'un tube en verre où on introduisait la cigarette allumée. Pour inspirer, le cobaye ou le lapin était obligé d'inhaler la fumée et d'entretenir ainsi la cigarette allumée.

Après chaque inhalation, la poire était enlevée quelques secondes, puis de nouveau mise à sa place (inhalation intermittente semblable à celle de l'homme). Chaque animal "fumait" ainsi pendant 1/4 d'heure par jour une moitié de cigarette.

Cette technique permet la survie des animaux dans

des conditions apparemment normales, pendant des intervalles de temps de 3 à 16 mois, nécessaires au développement des lésions de "sclérose pulmonaire".

CARSON & Coll. (58) administraient de la fumée de cigarette (en bouffées de 35 ml en 2 secondes à 1 minute d'intervalle), grâce à un masque appliqué sur le museau d'un chat anesthésié.

GEORGADZE (138) et KRASMIANSKAJA (cité par SHABAD 345) placèrent des lapins dans des caisses en bois comportant un orifice pour la tête. Un masque était placé sur le museau du lapin et comportait deux orifices (environ 1 cm de diamètre) en face du nez et de la bouche. Une cigarette allumée était insérée dans l'orifice proche de la bouche, tandis que le lapin continuait à respirer par l'orifice nasal.

b-3 - Inhalation par cathéter nasal

C'est une méthode directe, puisqu'elle utilise un cathéter introduit dans les voies respiratoires.

A la différence de la trachéotomie, elle permet à la fumée de parcourir les voies respiratoires supérieures, sans toutefois passer par la bouche et subir l'absorption observée chez l'homme (82).

ALBERT & ALESSANDRO (1) utilisèrent des ânes, inhalant la fumée grâce à 2 cathéters introduits dans les narines et reliés à une machine à fumer par l'intermédiaire d'un système de valve à 3 voies.

FRANCES & ALESSANDRO (133) décrivent l'appareillage : production, à partir d'une cigarette, de bouffées durant une

seconde, de 70 ml de volume au rythme de 6 bouffées par minute (le rythme respiratoire moyen des ânes est environ 10 par minute)

b-4 - Inhalation de fumée par la bouche

Il est très difficile d'inciter de petits animaux de laboratoire à inhaler la fumée de tabac par la bouche, puisque la respiration normale de ces animaux se fait par voie nasale. L'inhalation forcée est donc nécessaire.

KYLE & Coll. (214) rapportent que HAMBURGER & Coll. (communication orale) ont réalisé une respiration buccale forcée dans des études carcinologiques chez la souris par utilisation d'une pince spéciale pour le nez, accrochée aux incisives.

KYLE & Coll. (214) ont obturé le nez du cobaye avec de la paraffine fondue ou du silicone : la respiration par la bouche était assurée, mais elle consiste en une série de halètements.

En 1960, DALHAMN (75) décrivait une machine à fumer permettant l'exposition d'animaux à la fumée de tabac dans des conditions très proches de l'état physiologique.

L'appareillage comprend un tube de plexiglas (contenant l'animal), un appareil délivrant la fumée et une pompe à air actionnée par un moteur électrique.

Ce système rend possible la création d'un volume déterminé de fumée fraîche, dans des conditions d'aspirations constantes et l'introduction de la fumée directement dans l'appareil respiratoire de l'animal à un moment déterminé de l'inspiration, en alternant avec de nombreuses aspirations d'air

frais (7 ..

La fumée est inhalée seulement par la bouche, l'occlusion du nez étant obtenue par un système comportant un masque de plastique.

Ceci permet donc (78) :

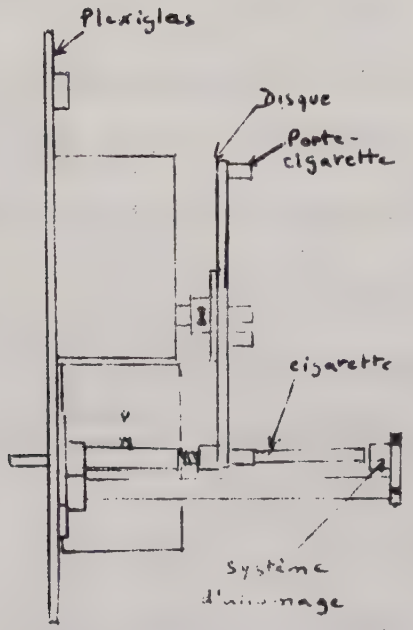
- l'inhalation de la fumée de cigarette par la bouche,
- l'utilisation de fumée fraîche,
- l'interruption régulière de la fumée remplacée par de l'air frais,
- une standardisation de la combustion de la cigarette, avec respect du temps et de la force d'aspiration,
- une quantité de fumée inhalée, correspondant à celle de l'homme.

PYBUS & Coll. (305) décrivent un appareil servant à faire fumer des singes (schéma), leur permettant d'inhaler la fumée de cigarettes qu'ils peuvent voir, mais qu'ils ne peuvent ni toucher, ni manger (les auteurs signalent que, jusqu'ici, on n'a pu dresser un singe rhésus à fumer une cigarette comme un homme).

Le système consiste en un disque qui, par rotation, peut présenter les cigarettes individuellement. Il comporte aussi un allume-cigarette, un système pour mesurer les différences de pression de l'air et un embout buccal à travers lequel l'animal peut fumer.

La machine accomplissait 3 fonctions de base :

- présentation séquentielle de cigarettes indivi-



Machine à fumer de PYBUS et coll. (305)

duellement,

- allumage des cigarettes,

- perception de modifications de pression survenant lorsque le singe fume.

Pour amener les singes à fumer, c'est-à-dire à aspirer, on leur fournissait l'eau de boisson au moyen d'un tube placé dans une bouteille. De ce fait, le singe devait aspirer dans le tube pour boire. Par la suite, l'embout de l'appareil à fumer était substitué au tube.

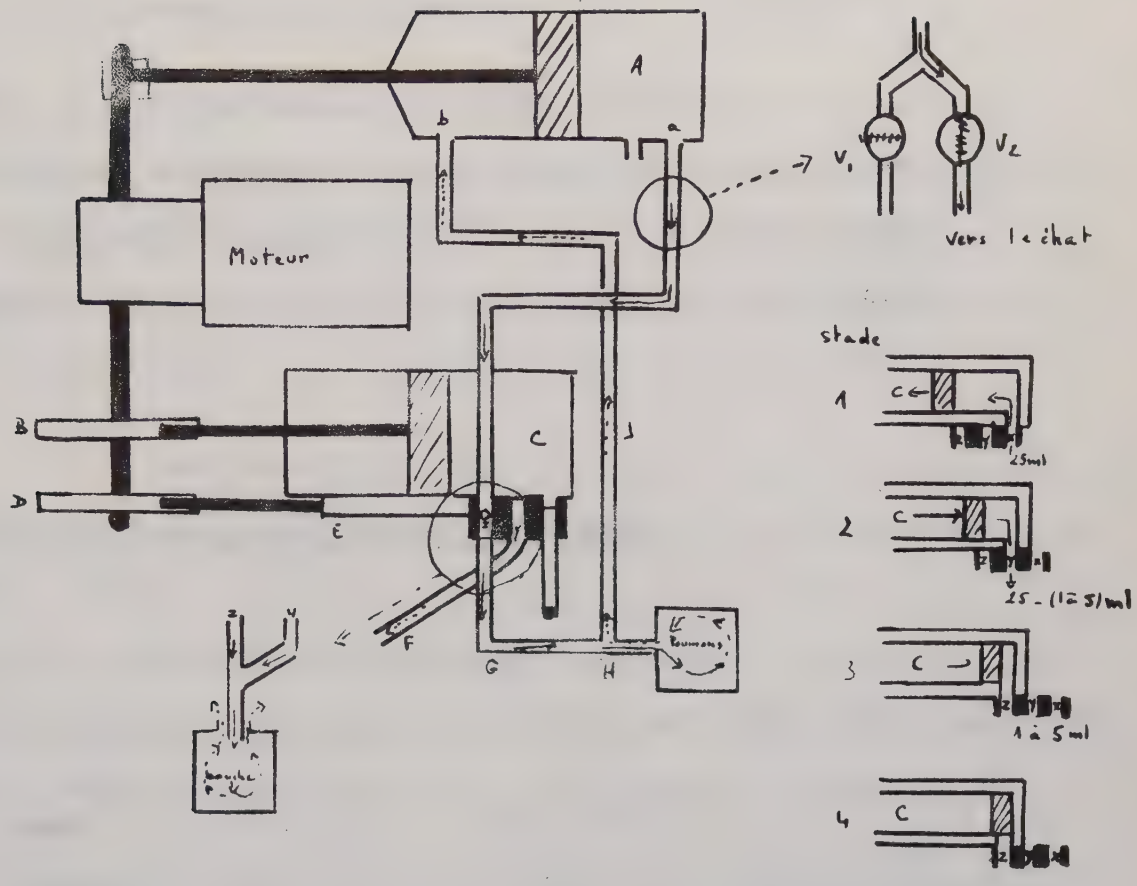
ARMITAGE & Coll. (10) décrivent une machine à fumer permettant d'introduire de la fumée de cigarette dans les poumons ou dans la cavité buccale d'un animal (chat) (schéma).

A = pompe à insufflation
B = came de commande de C
C = pompe à fumer
D = came de commande del'obturation
E = système d'obturation
F = vers la cavité buccale
G = vers les poumons
H = canule trachéale

b-5 - Administration de fumée de cigarette chez l'oiseau

PEACOCK (300) administre la fumée de cigarette par le sac aérien des poules.

Après incision, une canule de verre, reliée à une machine à fumer est introduite dans le sac aérien axillaire d'un oiseau. La cigarette est fixée sur l'un des bras d'un tube en Y relié à une seringue de 20 ml jouant le rôle d'une



Machine à Traire de ARMITAGE et Coll (10)

pompe et permettant ainsi d'administrer la fumée.

15 ml sont prélevés et introduits dans les poumons. L'animal peut respirer 5 fois entre les bouffées (pour simuler le fumeur) : 10 injections de 15 ml sont ainsi réalisées.

La fumée passe à travers un poumon, sort par le bec et est ainsi partiellement inhalée à nouveau. Ainsi, l'appareil respiratoire entier est exposé à la fumée. La tolérance était rapidement acquise et on pouvait administrer 1/2 cigarette tous les 2 jours.

c - Conditions essentielles à observer

Dès 1954, ESSENBERG (120) insiste sur divers points, concernant l'exposition en chambre d'inhalation :

- l'importance de la quantité de fumée administrée, qui ne doit pas être moindre que celle consommée par un gros fumeur,

- le temps d'exposition, devant approximativement correspondre au temps mis par l'homme pour fumer,

- la fumée doit atteindre les animaux directement et immédiatement, sinon, une grande partie des substances se dépose sur l'appareillage,

- la fumée doit arriver dans la cage au niveau de l'animal, et non au-dessus, et elle doit rester dans la chambre d'exposition au moins 8 à 10 minutes avant d'être aspirée à l'extérieur.

DALHAMN & RYLANDER (83 - 84 - 85) insistèrent aussi

sur l'importance de l'emploi de volumes convenables (ce qui fut démontré expérimentalement), sur le problème de la durée de l'exposition (elle dure plusieurs années chez l'homme), sur l'importance de l'intervalle de temps entre l'administration des bouffées de fumée.

PEACOCK (300) précisa que la fumée devrait être introduite dans les poumons sans contact préalable avec l'air libre, dans lequel le refroidissement et la précipitation de substances pourraient survenir. L'inhalation devrait être intermittente.

Les conditions essentielles à observer lors d'études expérimentales sur l'inhalation de fumée de cigarettes pour que celles-ci simulent l'inhalation par le fumeur furent énoncées en avril 1965, au Council for Tobacco Research, U.S.A. (LITTLE C.C.) : Report of the scientific Director, the council for tobacco Research, U.S.A., New-York, 1965-1966) :

1 - la fumée de cigarette produite mécaniquement doit être administrée par bouffées intermittentes, à intervalles appropriés, en réglant au préalable le volume des bouffées, leur fréquence et la longueur du mégot.

2 - la distance entre la zone de combustion et la cavité orale doit être réglée en fonction du débit.

3 - la fumée doit être diluée avec un volume approprié d'air avant son contact avec les bronches et les poumons.

4 - la fumée soufflée au travers de la zone de combustion est essentiellement la même en composition que celle aspirée au travers du mégot, permettant ainsi l'utilisation de générateurs mécaniques de fumée aspirant ou soufflant.

5 - les animaux doivent être exposés individuellement plutôt qu'en groupe.

6 - les animaux doivent être incités à inhaler par la bouche plutôt que par le nez.

3 - Autres méthodes

Les substances administrées le sont au moyen d'un excipient :

- Tween 60 (203),
- huile d'olive (363),
- encre de Chine (344),
- eucérine (41),
- gélatine (97).

Le choix d'un solvant approprié se fait en fonction d'un certain nombre d'exigences. Il est compliqué par le fait que les solvants organiques habituellement utilisés ont des propriétés toxiques marquées (97). Certains auraient des propriétés cancérigènes : en particulier, le Tween 60 pourrait avoir une action à la fois cancérigène et promotrice pour l'épiderme de souris (330). BLACKLOCK (41) rapporte, dans ses travaux, un taux de tumeurs spontanées chez le rat de 1,4 % et un taux de 2,3 % chez les rats inoculés avec de l'eucérine. KLEIN (203) décrit les lésions histologiques produites chez l'animal par le Tween 60, au niveau du poumon.

Il semble donc nécessaire de tester le solvant, de connaître aussi exactement que possible les modifications qu'il est susceptible d'entraîner et de compter parmi les animaux témoins :

1 - des animaux recevant l'excipient (sans la substance étudiée),

2 - des animaux ne recevant ni l'excipient, ni la substance,

Certains estiment que l'emploi d'une suspension colloïdale est la forme la plus appropriée pour l'administration de substances dans les poumons (97 - 330), mais on retient contre cela :

- la difficulté à contrôler la distribution physique de la substance dans la suspension,

- le fait qu'il s'agit d'un modèle expérimental étranger aux conditions de l'exposition de l'homme.

Lors d'expérimentations (cancérisation en particulier), se pose le problème de la pénétration satisfaisante de la substance dans les poumons, afin d'atteindre une dose suffisante en un point déterminé (ou dans tous les lobes pulmonaires) et durant une période prolongée. Or, les données de la littérature indiquent que la plupart des hydrocarbures cancérigènes sont éliminés des poumons en moins de 48 heures. Des particules absorbant la substance, la retenant, sont donc nécessaires dans le cadre de la cancérogénèse expérimentale surtout.

PYLEV (306) emploie une solution colloïdale de benzopyrène et d'encre de Chine.

SHABAD & Coll. (346) notent que l'introduction, par intubation chez le rat, de benzopyrène avec de l'encre de Chine et l'Infusine (Infusine : pour 1 000 ml d'eau distillée : NaCl 7,8g-Kcl : 0,2g-MgCl : 0,1 g-NaHCO3 ...

2,8g-caséine : 40,2g), retardait considérablement l'élimination du BP par le tissu pulmonaire.

SAFFIOTTI & Coll. (330) employèrent des poussières inertes comme support des substances cancérigènes : mélange à 50 % de benzopyrène et de Fe_2O_3 en solution saline.

Ces particules inertes n'induiraient ni fibrose ni aucune réaction tissulaire (en dehors de leur phagocytose et de leur accumulation).

KOURILSKY & Coll. (210) insistent sur l'importance :

- de la concentration,
- du solvant,
- de l'état physique des substances,

dans le cadre des expériences sur la cancérogénèse pulmonaire.

Introduction intratrachéale d'une substance par badigeonnage bronchique

TIPTON & CROCKER (366) procèdent à l'application de condensat de fumée de cigarette chez le chien, sur la paroi de la bronche souche gauche, sous contrôle de la vue par bronchoscopie. Les auteurs prennent soin de ne pas toucher la muqueuse bronchique au point d'inoculation, avec l'extrémité du bronchoscope.

Le condensat fut appliqué chaque jour pendant 8 jours à la dose de 0,05 ml pour les 3 premiers jours, puis 0,1 cc.

ROCKEY & SPEER (317- 318) appliquent de façon répétée du condensat de fumée de cigarette sur la muqueuse bronchique du chien à la faveur d'une fenêtre trachéale.

Introduction intratrachéale d'une substance par instillation

DELLA PORTA & Coll. (97) décrivent une méthode d'administration intratrachéale de goudron de tabac : la substance est instillée directement dans l'arbre trachéobronchique d'un hamster syrien doré : une canule est introduite par voie orale dans la trachée puis un tube de polyéthylène est passé dans la canule, la suspension étant injectée ensuite à l'aide d'une seringue.

BLACKLOCK (41) essaie d'introduire le condensat de fumée de cigarette réchauffé dans la trachée de rats au moyen d'une longue aiguille à pointe émoussée atteignant environ le niveau de bifurcation de la trachée. Mais la plupart des animaux mouraient immédiatement de suffocation et d'intoxication ou plus tard d'une pneumonie septique. La mortalité était si grande que cette méthode fut abandonnée par l'auteur.

HERROLD (168 - 169) utilise l'instillation intratrachéale chez le hamster syrien anesthésié à l'aide d'une pipette.

SHABAD (344) introduit chez le rat un carcinogène (benzopyrène) en suspension colloïdale par intubation. Cette méthode permet de contrôler l'introduction de la substance et de la répéter relativement fréquemment, ce qui est un avantage par rapport aux méthodes chirurgicales d'administration intratrachéale de carcinogènes.

SAFFIOTTI & Coll. (330) administrent de l'hématite supportant du benzopyrène, en suspension saline, chez le hamster, par instillation intratrachéale.

Cette méthode est préférée à l'inhalation, car on peut administrer avec plus de précision et plus rapidement une quantité déterminée; la dose choisie peut être introduite entièrement dans l'arbre respiratoire, tandis que la méthode par chambre d'inhalation (comme on l'a vu au Chapitre "Inhalation") expose l'animal entier à la fumée avec une pénétration possible au travers de la peau et de l'appareil gastro-intestinal.

La distribution de ces substances se faisait dans tous les lobes et les poussières (hématite + BP) étaient amassées dans des agrégats de macrophages autour des parois alvéolaires.

KOURILSKY & Coll. (210) rappellent que, lors d'injections intratrachéales (traumatisantes), le volume administré doit être faible afin d'éviter obstruction bronchique et atélectasie (qui troublent la mécanique ventilatoire et peuvent localiser la substance en un territoire).

Injection transpariétale

BLACKLOCK, en 1957 (40), devant les difficultés rencontrées lors de l'introduction de substances cancérigènes par intubation chez le rat (fragilité des tissus trachéaux et injection de produits dans le médiastin et la plèvre) a recour à l'injection directe dans les poumons à travers la paroi thoracique.

KOURILSKY & HAPPERT (209) procèdent à la cancérisa-

tion de souris par injection intra-thoracique directe au ras du diaphragme.

Les accidents hémorragiques sont rares (17 sur 240). La quantité totale injectée à chaque animal représente la quantité de goudron obtenue par la combustion d'une 1/2 cigarette de tabac brun (on injecte 0,2 ml de la solution au 1/10 tous les 3 jours, pendant 21 semaines).

Injection de produit, sous contrôle visuel, par thoracotomie

Cette méthode fut utilisée par BLACKLOCK (40), chez le rat blanc CB, pour l'étude de la production de tumeurs du poumon par le 3-4 benzopyrène et le condensat de fumée.

Chez l'animal anesthésié, une thoracotomie était pratiquée, en maintenant une pression suffisante pour prévenir le collapsus des poumons, l'injection était pratiquée directement dans l'organe, l'aiguille était dirigée vers le hile. Les diffusions dans la cavité pleurale étaient ainsi empêchées, bien qu'avec des injections huileuses ceci ne pouvait être toujours évité (nécessité de rapidité pour fermer la plaie afin de restaurer aussi vite que possible les pressions intrathoraciques normales).

Cette méthode est reprise par l'auteur en 1961 (41). L'avantage est l'absence de traumatismes répétés qui pourraient jouer un rôle dans la production de tumeurs malignes.

Introduction d'une substance par voie cutanée, intrapéritonéale

Il est possible, pour cette méthode, d'observer des tumeurs pulmonaires.

TAKAYAMA (363) injecte en sous-cutané, dans la région interscapulaire de la souris ICR, du goudron de tabac avec de l'huile d'olive.

BOYLAND & Coll. (47) procèdent à des injections intrapéritonéales de 0,1 ml de nitrosonornicotamine à 2 % dans l'huile d'arachide, chez des souris de la souche CB.

GUERIN & CUZIN (148 - 149) observèrent une métastase ganglionnaire et pulmonaire après badigeonnage cutané chez la souris, par des substances extraites du goudron de cigarette.

En fait, le plus souvent, seul le cancer cutané local se développe.

4 - Systèmes in vitro

a - Précautions à observer lors de l'emploi de préparation in vitro

KENSLER & BATTISTA (200), utilisant des trachées de lapins immergées dans une solution de Tyrode, précisent que la température doit être maintenue entre 36 et 40°C (environ 38°), et que le pH doit être de 6,5 à 8,5.

Utilisant des trachées de mammifères non immergées, en chambre humide, ces auteurs (198) rappellent qu'il faut

maintenir une température et une humidité appropriées, contrôler le volume et la viscosité du film appliqué (solution de Tyrode avec blanc d'oeuf), à la partie inférieure de la préparation inclinée.

b - Méthodes d'exposition in vitro

KOTIN & FALK (124 - 207) placent des fragments d'épithélium trachéal de rats et de lapins dans une enceinte spéciale. L'épithélium peut être exposé à la fumée de cigarette par passage de l'aérosol sur la préparation ou par application d'une solution aqueuse des composants de la fumée.

Ces méthodes sont employées pour les raisons suivantes :

- le passage passif de l'aérosol tente de reproduire les circonstances in vivo de l'exposition de la plus grande partie de l'arbre trachéobronchique,

- la deuxième méthode reproduit la situation "in vivo" survenant aux bifurcations bronchiques,

- la dernière technique a été utilisée sachant que beaucoup de composants actifs sur l'épithélium respiratoire sont hydro-solubles.

KENSLER & BATTISTA (200) utilisent des préparations de trachées de lapins placées dans une solution de Tyrode ou dans une enceinte humide où elles peuvent être exposées à de multiples bouffées de fumée de cigarettes (ou de composants gazeux) dans des conditions où l'on peut contrôler la durée

d'exposition et la faire varier (cette méthode est décrite en détail par KENSLER & BATTISTA (199).

DI PAOLO (99) utilise des fragments de poumons (de souriceaux nouveaux-nés), mis en contact avec une solution de condensat de fumée, puis greffés dans le tissu sous-cutané (peau de l'abdomen ou de la cuisse) des souris adultes de même souche (A et DBA).

LASNITZKI (227) utilise des cultures de poumon foetal humain : il ajoute au milieu de cultures du condensat, à des concentrations variables.

TAYER & KENSLER (365) ajoutent du condensat en solution à des cultures de tissus tumoraux humains, KB.

LEUCHTENBERGER & Coll. (237) décrivent une machine à fumer construite pour étudier l'effet de la fumée de cigarette sur des cellules de cultures de poumons de souris.

Elle consiste en 4 compartiments séparés (volume de chaque compartiment 680 ml), dans lesquels les systèmes sont placés et exposés aux bouffées de fumée fraîche de cigarette à intervalles choisis. Dans chacun des 4 compartiments, une boîte de Pétri sans couvercle contenant les cultures de poumons était placée aussi près que possible de l'ouverture du porte-cigarette, de façon à ce qu'une bouffée fraîche de fumée passe immédiatement sur les cultures. Au moyen d'une pompe à vide, une bouffée de fumée était tirée de chaque cigarette allumée dans chacun des 4 compartiments. Chaque compartiment était ensuite évacué et l'air pouvait entrer. Chaque culture était exposée seulement une fois à un certain nombre de bouffées.

Chaque bouffée était de 5 ml, pendant 5 secondes,

et à intervalles de 15 secondes (afin d'éviter une trop rapide exposition à une grande quantité de fumée (35 ml en 2 secondes).

On obtenait 20 à 22 bouffées avec une cigarette, fumée jusqu'à un mégot de 23 mm.

III - ETUDE DES RESULTATS EXPERIMENTAUX

A - Altérations fonctionnelles

1 - Fonction ventilatoire

Ce type d'expériences a permis d'étudier les effets du tabac non seulement chez l'animal, mais aussi chez l'homme : il est, en effet, relativement "facile" d'étudier les modifications de la fonction ventilatoire chez celui-ci après inhalation de la fumée d'une ou de plusieurs cigarettes. L'homme devient, dans le cadre de cette étude, un véritable sujet d'expérience.

Mais LARSON & SILVETTE (223) rappellent qu'il existe une grande variation dans les résultats de tests sur la fonction ventilatoire parmi des individus normaux de même sexe, âge et taille, et que les tests eux-mêmes ont des limites certaines. Le test peut être affecté par les conditions physiques du sujet et aussi par ses motivations et sa coopération. De plus, il est absolument nécessaire de savoir, lorsqu'il s'agit d'un fumeur, si celui-ci n'a pas fumé juste avant l'expérience, les fonctions ventilatoires pouvant être ainsi influencées.

Enfin, il existe des différences dans les tests respiratoires entre fumeurs et non fumeurs. Il faut donc être très renseigné sur les habitudes tabagiques des sujets étudiés.

SHAPIRO & PATTERSON (348) insistent en particulier sur la nécessité d'interpréter les résultats en tenant compte des conditions physiques des sujets [(athlète ++) et (fumeur ++)].

a - Volumes et débits

Tabac et fréquence respiratoire

CARSON & GOLDHAMER (59), exposant des cobayes anesthésiés à l'éther, à la fumée de cigarettes pourvues de 9 sortes de filtres, en chambre d'inhalation, observent une diminution appréciable de la fréquence respiratoire durant l'expérience (avec augmentation des temps inspiratoires et expiratoires). Le rythme se rapprochait ensuite de sa valeur antérieure à la fin de la période de récupération de 15 minutes. Les auteurs notèrent que ceci n'était pas observé pour les filtres associant charbon de bois et acétate de cellulose.

ROCKEY & SPEER (318) constatèrent une augmentation de la fréquence respiratoire chez des chiens inhalant la fumée de cigarette.

SHORE & Coll. (349) constatèrent, chez des rats, un ralentissement du rythme chez un animal, une accélération chez deux, la fréquence restant inchangée pour deux autres animaux (ceci après administration de 5 bouffées).

Parmi ces quelques expériences relevées, on voit que l'action de la fumée de cigarette sur la fréquence respi-

ratoire est pour le moins variable. Les réponses ventilatoires à la fumée de cigarette varient, on le verra, avec les espèces animales.

De nombreuses études ont porté sur la nicotine administrée par différentes voies : (intra-musculaire, intra-veineuse en particulier), études qui, si elles sont fort intéressantes sur le plan pharmaco-dynamique, restent éloignées des conditions du fumeur.

Action du tabac sur le volume courant

On a pu constater une augmentation du volume courant :

- chez le chien anesthésié, après l'inhalation d'une bouffée de cigarette (22).

- chez le cobaye anesthésié placé en chambre d'inhalation (59),

- chez le cobaye recevant des bouffées de fumée (l'effet est maximum pour des bouffées de 10 ml) (247).

LOOMIS (247) ne constate pas de modification significative du V_T lors de l'emploi de cigarette à bout filtre. L'atropine ne modifie pas le V_T (contrairement au nitrite d'amyle).

SHORE-AVIADO (349) constatent que l'inhalation de 5 bouffées de fumée de cigarette provoquait une diminution du volume courant chez 4 rats sur 5, une augmentation chezlsur 5. Par contre, s'ils administraient de la nicotine par voie intra-veineuse (0,1 à 0,4 mg/kg), il se produisait une augmentation du volume courant chez ces animaux.

Tabac et ventilation minute

ITO & Coll. (188) ne constatent pas de modification du volume respiratoire minute chez le rat soumis à la fumée de cigarette pendant 10 semaines (2 fois 30 minutes par jour) par rapport à des rats témoins.

L'injection d'isoprotérénol (bronchodilatateur) augmente le volume respiratoire minute.

GIUSTI & Coll. (140) injectèrent, chez l'homme, 1 mg de nicotine en intra-musculaire (6 heures au moins après le dernier repas et 3 heures au moins après avoir fumé) chez 31 sujets normaux (dont 13 étaient fumeurs).

La ventilation par minute était inchangée chez 10 d'entre-eux (dont 6 fumeurs), était augmentée chez 18 et diminuée chez 3. Les auteurs supposent que l'augmentation constatée était due à un effet stimulant de la nicotine sur les chémorécepteurs carotidiens.

La capacité vitale

Chez l'homme, GIUSTI & Coll. (140) dans le contexte expérimental vu précédemment (injection I.M. de nicotine), n'observèrent pas d'effet sur la capacité vitale.

SIMONSSON (351) ne constate pas de modifications significatives du F.V.C. (forced vital capacity) après inhalation de 1 à 2 cigarettes, sauf chez des sujets porteurs d'une maladie pulmonaire.

BICKERMAN & BARACH (39) ne trouvent pas de modifications constantes après inhalation de 3 cigarettes chez 27

sujets normaux et 91 sujets porteurs de B.P.C.

Capacité fonctionnelle résiduelle

ITO & Coll. (188) exposèrent des rats pendant 10 semaines (2 fois 30 minutes par jour) à la fumée de cigarette en chambre d'inhalation.

Aucune modification de C.F.R. ne fut observée par rapport aux témoins.

De même, chez l'homme, l'augmentation de la C.F.R. après avoir fumé est insignifiante (268 - 93 - 94).

Volume expiratoire maximum seconde

MILLER & SPROULE (268) rapportent l'absence de modifications significatives du V.E.M.S. chez l'homme (adulte sain), après inhalation de fumée de cigarette. Les auteurs expliquent ceci par l'abolition temporaire de l'augmentation de la résistance des voies aériennes par des mécanismes réflexes mis en jeu durant l'inspiration profonde qui précède l'expiration forcée.

GIUSTI & Coll. (140) injectant de la nicotine en intra-musculaire chez l'homme n'observèrent pas non plus d'effet sur le V.E.M.S.

Il est donc important de tenir compte du fait qu'une inspiration profonde pourrait modifier temporairement la résistance aérienne. Pour NADEL & COMROE (?77), cette inspiration profonde ne modifierait pas la résistance dans les conditions normales, mais elle la réduirait (durant 1 à 2 minutes)

en présence d'un agent bronchoconstricteur (fumée de cigarette ou autre).

SIMONSSON (351) aurait pourtant observé une légère diminution du F E V chez 28 sujets sur 32 (dont 16 sains et 16 porteurs d'une maladie pulmonaire), après inhalation de 1 à 2 cigarettes.

b - Compliance

1 - Chez l'animal

Il semble que la fumée de cigarette produise peu ou pas de modifications de la compliance :

Chez le chien (.?) et chez le rat (296), les modifications de la compliance surviennent moins fréquemment et nécessitent plus de fumée de cigarette que les modifications des résistances bronchiques. La réponse serait, en outre, annulée par l'injection intra-veineuse d'atropine avant l'exposition à la fumée.

CARSON & Coll. (59) n'observent que des modifications non significatives chez le cobaye placé en chambre d'inhalation.

Aucune modification ne fut rapportée :

- par PALECEK & Coll. (296) : chez le lapin (ni par inhalation de fumée de cigarette ni par injection intra-veineuse de nicotine),

- ni par ITO & AVIADO (188) : pas de modification de la compliance chez des rats soumis à la fumée de cigarette pendant 10 semaines (2 fois 30 minutes par jour).

Par contre, GUILLERM & Coll. (155) notent un abaissement de la compliance chez le cobaye.

Ce phénomène (ainsi que l'augmentation des résistances expiratoires comme on le verra plus loin), ne serait pas dû à la nicotine, mais à certains aldéhydes (éthanal et acroléine). Aucun changement dans ces réactions n'est constaté après double vagotomie ou administration d'atropine. Par contre, l'injection intra-veineuse d'un antihistaminique (la mépyramine) les font disparaître.

ITO & AVIADO (188) provoquèrent un emphysème expérimental chez des rats par ligature trachéale et injection de papaïne. Chez ces animaux, l'administration d'isoprotérénol augmentait la compliance (abaissée auparavant). Cet effet serait plus intense chez les animaux emphysémateux soumis à la fumée de cigarette.

2 - Chez l'homme

BILLET & DUARTE (159), chez des sujets non fumeurs, n'observent pas de diminution significative de la compliance après une cigarette.

EICH & Coll. (110), étudiant la valeur de la compliance avant et après avoir fumé une cigarette chez des sujets emphysémateux et des sujets témoins, n'observent pas de différences significatives.

MILLER ET SPROULE (268) étudient les effets aigus de l'inhalation de fumée de cigarette sur les propriétés mécaniques du poumon chez 10 hommes adultes en bonne santé.

La compliance est mesurée avant et après inhalation au moyen d'un ballon oesophagien. Elle se trouve significativement diminuée après inhalation, mais ceci serait dû à une ventilation irrégulière.

c - Résistance des voies aériennes

Action du tabac sur les résistances ventilatoires

1 - Chez l'animal

a - Action de la nicotine :

L'injection de nicotine, en intra-veineux ou dans la carotide, chez le chien anesthésié, provoque une augmentation des résistances aériennes chez le chien (279 - 22), le chat (296), et le rat (349).

Cette réponse est annulée chez le chien (22), réduite chez le rat (349), par l'injection préalable d'atropine.

Contrairement aux espèces animales étudiées précédemment, l'injection intra-veineuse de nicotine au lapin anesthésié, ne provoque pas de réponse des voies aériennes (297), ceci est en contraste avec l'observation de la contraction des muscles trachéaux isolés de lapins sous l'influence de la nicotine (254 - 255). De telles réponses seraient dues à de fortes doses de nicotine. On verra que le lapin est un animal qui ne répond pas de façon semblable au chat et au chien.

b - Action de la fumée de cigarette

Dès 1956, LOOMIS (247) rapportait que la fumée de cigarette provoquait chez le cobaye ventilé artificiellement une augmentation de la pression d'insufflation. Ce phénomène serait

dû à l'action bronchoconstrictrice du tabac et ne serait pas aboli par l'administration préalable de sulfate d'atropine (500 microgr/kg en intra-veineuse).

En accord avec LOOMIS, GUILLERM & Coll. (155) constatèrent une augmentation de la pression d'insufflation(due à la fois à un abaissement de la compliance pulmonaire et une augmentation des résistances dynamiques expiratoires), chez le cobaye à moëlle coupée, inhalant de la fumée par trachéotomie (ce phénomène est inconstant chez les animaux curarisés à moëlle intacte (155).

Chez le rat, l'inhalation de 5 bouffées de cigarette (349) provoquait une augmentation de la résistance (bloquée ou réduite par l'atropine).

Chez le chien (22), une bouffée de fumée était suffisante pour induire une augmentation immédiate de la résistance, suivie d'une diminution (réponse annulée par l'atropine).

Chez le chat anesthésié, il faut 5 bouffées de fumée pour observer un accroissement des résistances (296). Au contraire du chien, la réponse n'est pas biphasique (pas de baisse de la résistance suivant la montée).

Par contre, le lapin répond différemment : PALECEK & Coll. (297) n'observent pas de modification de la résistance après inhalation de fumée. Cette différence avec le chat et le chien est importante à noter car le lapin a été utilisé pour tester les effets de la fumée de cigarette (182 - 215).

- Chez l'homme

a - Nicotine

Pour NADEL & Coll. (278), COMROE & Coll. (68), SIMONSSON (351), la nicotine ne semble pas avoir d'effet significatif sur la résistance des voies aériennes ou sur la conductance (inverse de la résistance). L'inhalation d'aérosols de sérum physiologique et de bitartrate de nicotine (2 mg/ml) n'affecte pas la conductance de manière significative (278 - 68).

b - La fumée de cigarette

EICH & Coll. (110) comparèrent des sujets emphysémateux et des sujets témoins non emphysémateux. Une augmentation marquée de la résistance des voies aériennes était observée chez 14 des 15 sujets emphysémateux, après inhalation de la fumée d'une cigarette, cette réaction n'existant pas dans le groupe témoin.

ATTINGER & Coll. (11 - 12) n'observèrent pas de modifications significatives de la résistance inspiratoire ou expiratoire après inhalation de fumée.

Ces résultats sont en contradiction avec ceux de MOTLEY & KUZMAN (272), de NADEL & COMROE (277), de LOVEJOY & DAUTREBANDE (249), de MILLER & SPROULE (268), qui observèrent une augmentation des résistances aériennes après l'inhalation de fumée de cigarettes (1 ou 2 cigarettes) par des sujets sains (fumeurs et non-fumeurs).

Pour expliquer ces différences, MILLER & SPROULE (26

remarquent que les études de EICH ont porté sur des témoins non emphysémateux comprenant des sujets normaux et des sujets porteurs d'asthme et de bronchite. Si on isole le résultat des sujets normaux, on constate que les résistances augmentent après inhalation de fumée.

Quant aux résultats de ATTINGER & Coll. (11 - 12), ils ont porté sur les résistances inspiratoires ou expiratoires

Mais si l'on raisonne sur les résistances moyennes, on note une augmentation chez 17 sujets sur 29, ce qui est hautement significatif.

En fait, il semble exister une grande variabilité des réponses (329), qui tiendrait pour une part à la technique employée (erreurs de mesure), à l'inhalation plus ou moins profonde de la fumée (252).

c-2 - <u>Mécanisme invoqué pour expliquer l'augmentation des résistances des voies aériennes</u>.

La plupart des auteurs s'accordent pour admettre que le mécanisme principal est une bronchoconstriction (155 - 277) bronchoconstriction des unités ventilatoires terminales selon GUILLERM & Coll. (155).

Des substances bronchodilatatrices administrées avan la fumée de cigarette annulent l'élévation des résistances aériennes (277); administrées après la fumée, elles ramènent les résistances à leurs valeurs normales (155).

En particulier, la bronchoconstriction causée par l'inhalation de fumée de cigarette chez l'homme disparaît après l'inhalation d'un aérosol d'isoprotérénol (249).

La réponse biphasique observée chez le chien serait

due à une bronchoconstriction suivie d'une bronchodilatation. Ce dernier mécanisme est absent chez le chat. La bronchoconstriction présente dans les deux espèces serait, selon PALECEK & Coll. (296), due à un mécanisme semblable à celui rapporté chez l'homme suivant l'inhalation de fumée de cigarette (110 - 277). La réponse uniphasique du chat est semblable à celle de l'homme.

c-3 - Mécanisme de la bronchoconstriction

Le mécanisme de la bronchoconstriction a été particulièrement étudié chez le chien anesthésié soumis à l'inhalation de fumée de cigarette et d'un aérosol de nicotine (23), à des injections dans les artères bronchiques de nicotine (23), à l'application de nicotine sur la plèvre viscérale (334).

Il ressort de ces études que le bronchospasme induit par la fumée de cigarette est un phénomène complexe et au moins 3 mécanismes ont été identifiés :

1 - un réflexe par l'intermédiaire des branches pulmonaires du nerf vague,

2 - une stimulation directe du ganglion parasympathique des voies aériennes,

3 - un mécanisme humoral impliquant la libération d'histamine.

La participation deces mécanismes a été prouvée par l'utilisation d'agents bloquants appropriés :

- anesthésiques locaux pour interrompre le réflexe intrapulmonaire (23),

- sulfate d'atropine ou hexaméthonium pour bloquer le ganglion parasympathique ou la jonction neuro-effectrice (62 - (35)

- substance produisant la déplétion des stocks d'histamine dans le poumon (24).

La broncho-dilatation observée chez le chien et suivant la bronchoconstriction serait due au système sympathique (23).

L'expérience inverse, consistant à tenter de reproduire, grâce à certaines substances, les mécanismes observés, a été aussi tentée, en particulier pour l'histamine (334 - 335), puisque de nombreux auteurs ont pensé que celle-ci intervenait pour une part dans le mécanisme de bronchoconstriction (297 - 331) : ainsi, le lapin, qui ne répond pas à la fumée de cigarette par une augmentation des résistances des voies aériennes, ne répond pas à l'histamine par une bronchoconstriction (297), et la libération d'histamine durant l'inhalation de fumée de cigarette a été démontrée chez le chien (24).

Pour GUILLERM & Coll. (155), il se produirait une libération réflexe d'adrénaline chez le cobaye à moëlle intacte inhalant de la fumée, expliquant l'inconsistance de la bronchoconstriction et l'augmentation de la pression artérielle.

c-4 - <u>Substances responsables de l'effet bronchoconstricteur de la fumée de cigarette</u>.

Pour LOOMIS (247), GUILLERM & Coll. (155), la nicotine n'interviendrait pas dans le phénomène de bronchoconstriction : l'inhalation d'un aérosol de nicotine par le cobaye ne provoque pas de bronchoconstriction, tandis que l'inhalation de fumée de cigarette, faite de barbe de maïs (qui ne contient pas l'alcaloïde) la provoquerait (155). LOOMIS (247), tout en affirmant que l'agent actif n'est pas la nicotine, constate une diminution de l'effet

bronchoconstricteur avec des cigarettes dénicotinisées.

- plus, les expériences citées plus haut ont montré que la nicotine provoquait une augmentation des résistances (22 - 279 - 296 - 349).

Enfin, lors d'une communication récente, GUILLERM aurait reconnu à la nicotine une certaine action bronchoconstrictrice.

Pour SAMANEK & Coll. (333) : la nicotine atteignant les voies aériennes aurait une faible action : elle n'explique pas tous les mécanismes provoquant la bronchoconstriction. Ceci laisse donc à penser que d'autres substances présentes dans la fumée de cigarette jouent un rôle.

La phase particulaire et la phase gazeuse seraient impliquées dans cette action : l'effet serait réduit de moitié après interposition d'un filtre (155). Ceci est en accord avec les données de CLARKE & Coll. (66), comparant chez l'homme la bronchoconstriction (appréciée par pléthysmographie), obtenue par des cigarettes avec ou sans filtre : la réponse est diminuée en filtrant soit la phase vapeur, soit la phase particulaire.

<u>L'emploi d'un filtre semble donc être bénéfique pour limiter la réponse bronchoconstrictrice</u> (315).

GUILLERM & Coll. (155) montrent le rôle primordial de l'éthanal et de l'acroléine : l'inhalation d'un mélange de ces deux substances, aux concentrations rencontrées dans la fumée de cigarette, provoquerait le même effet que celle-ci (ces auteurs envisagent la possibilité d'une action histaminolibératrice de ces substances) (voir chapitre-tabac et

métabolisme pulmonaire).

2 - Vascularisation pulmonaire

SAMANEK & AVIADO (335) étudient l'effet de la fumée de cigarette et de la nicotine chez le chien anesthésié, par perfusion de l'artère bronchique et de l'artère pulmonaire d'un lobe. Ils constatent :

- une vasoconstriction de l'artère bronchique après inhalation de fumée de cigarette et après injection de nicotine dans l'artère bronchique.
- une vasoconstriction de l'artère pulmonaire après inhalation de fumée de cigarette et injection d'histamine dans l'artère bronchique.

Ces phénomènes seraient d'ordre réflexe (réflexes adrénergiques).

La vasoconstriction bronchique et pulmonaire tendrait à réduire l'absorption de la substance inhalée.

La vasoconstriction pulmonaire survenant en même temps que la bronchoconstriction d'origine vagale tendrait à réduire la perfusion et la ventilation du lobe exposé à la substance.

Ces réflexes tendent donc à réduire la quantité de substance absorbée par le poumon et à maintenir un rapport ventilation-perfusion convenable.

CHO & SAMANEK (62) observent également une constriction des artères chez le chien soumis à la fumée de cigarette.

3 - Echanges gazeux

a - Chez l'animal :

LOCHNER & Coll. (244) rapportent que l'injection intra-veineuse de 10 à 50 g:kg de nicotine chez le chien anesthésié provoque une augmentation de la saturation en oxygène dans le sang du sinus coronarien (ces auteurs pensent qu'il y aurait une stimulation du sympathique et une augmentation de la sécrétion d'épinéphrine).

KIEN & SHERROD (201) constatent une augmentation brève, mais marquée, de la saturation en oxygène du sang veineux coronarien. Chez le chien anesthésié, à thorax ouvert, après administration de 20 g/kg de nicotine ou de 1 200 à 1 500 ml de fumée de cigarette, la saturation artérielle en oxygène ne change pas.

BELLET & Coll. (35) observent une diminution de la différence artério-veineuse coronarienne en oxygène chez les chiens (à la fois chiens normaux et chiens avec une insuffisance coronarienne), après administration (dans la veine fémorale) de nicotine.

LARSON & Coll. (220 - 221) n'observent pas de modifications du pH, de la PcO_2 et de la PO_2 artériels chez le chien anesthésié recevant de la nicotine par voie intra-veineuse.

b - chez l'homme :

VON AHN (379) détermine la saturation en oxygène du sang durant l'inhalation de fumée de cigarette et de cigare et durant l'hypoxie induite par la respiration d'un mélange gazeu

contenant 6,5 % de O_2 ; 4,5 % de CO_2 et 89 % de N_2.

L'oxygène artériel baissait dans les deux cas. Dans des conditions similaires d'hypoxie induite, l'injection intraveineuse de 1 ou 3 mg de nicotine provoquait une augmentation significative de la saturation en oxygène d'environ 3 % par rapport aux témoins. Ceci était probablement dû au fait que la nicotine stimulait la respiration (profondeur et rythme).

MOTLEY & KUZMANN (272) étudient les effets aigus de la fumée de cigarette sur des sujets au repos (125 hommes et 16 femmes) (utilisation d'un moyen permettant l'inhalation de fumée à chaque inspiration). Ils observèrent une diminution constante et significative de la saturation d'oxygène dans le sang artériel et de la PO_2 artérielle chez les sujets ayant un emphysème sévère. Les sujets normaux et ceux ayant un emphysème modéré ne montrèrent pas de modifications significatives dans les échanges gazeux sanguins.

FREUND (136) rapporte une réduction significative de la saturation veineuse périphérique en oxygène chez 14 sujets normaux ayant fumé une cigarette. Mais FREUND et WARD (137) n'observent pas des résultats semblables chez des sujets porteurs d'une maladie vasculaire périphérique.

4 - Tension superficielle alvéolaire

On sait l'importance des phénomènes de surface dans le maintien de l'équilibre des forces interalvéolaires (380 - 308).

La fréquence de l'emphysème pulmonaire chez les gros fumeurs (11 - 250 - 267) a conduit à étudier l'effet de

la fumée de cigarette sur la tension superficielle et la compressibilité de surface d'extraits pulmonaires.

En 1960, BONDURANT (44) décrit une méthode pour extraire la substance active du revêtement alvéolaire (=surfactant. D'après ZIVY (412), le terme "surfactant""désigne l'ensemble des substances réglant la tensio-activité alvéolaire soit un mélange, encore mal connu, de polysaccharides, de graisses neutres et d'une phosphodi-palmityl-lécithine").

Travaillant sur des extraits de poumons (poumons humains, rats), BONDURANT observe une diminution de la tension de surface, après exposition à la fumée de cigarette durant une minute.

MILLER & Coll. (266) exposèrent in vivo des rats à la fumée de cigarette, 8 à 30 minutes, durant 3 jours consécutifs. Les animaux étaient sacrifiés et la substance active extraite. L'inhalation de fumée de cigarette semblait altérer la relation entre tension de surface et la surface de l'extrait

MILLER & BONDURANT (267) mesurent la tension superficielle et la compressibilité de surface sur des extraits de poumons de rats ou sur des rats préalablement exposés à la fumée.

L'application de fumée de cigarette sur des extraits de poumons censés représenter le surfactant, provoque une diminution de la tension de surface et une augmentation de la compressibilité de surface alvéolaire.

Les extraits préparés à partir de poumons de rats exposés à la fumée durant leur vie (8 fois 1/2 heure durant 3 jours consécutifs, le 4ème jour, exposition à la fumée pendant à nouveau 1/2 heure) montrent une tension de surface diminuée

et une compressibilité de surface augmentée par rapport à des animaux témoins.

Ces modifications agiraient sur les forces maintenant la stabilité alvéolaire et pourraient ainsi intervenir pour favoriser l'emphysème.

ROSENBERG & Coll. (323) obtiennent des résultats en accord avec ceux de MILLER et BONDURANT (267) à savoir une réduction de la tension de surface chez des animaux ayant été exposés à la fumée de cigarette.

WEBB & Coll. (384) auraient notamment démontré qu'il existait une réduction significative du surfactant obtenu par lavages bronchiques, chez des fumeurs chroniques, sans symptomatologie pulmonaire (95).

Cependant, récemment, GIAMMONA (139) a montré qu'il n'existait pas de modification de la tension superficielle ni du métabolisme du surfactant chez des chiens ayant été soumis à la fumée de cigarette, en utilisant des techniques mesurant l'incorporation d'acide palmitique marqué dans le surfactant pulmonaire.

5 - Rétention des éléments de la fumée

DALHAMN & Coll. (81) étudièrent chez l'homme la rétention pulmonaire de certains composés volatiles et particulaires de la fumée de cigarette.

Les auteurs rappellent que la fumée de cigarette présente un problème spécial : l'inhalation se fait par la bouche, le mécanisme de défense naturelle qu'est le nez est évité. De plus, l'inhalation de la fumée est divisée en deux

étapes distinctes : aspiration dans la bouche et, ensuite, inhalation.

DALHAMN & Coll. ont montré dans des études précédentes chez l'homme (82) que, lorsque la fumée est gardée dans la bouche pendant 2 secondes, environ 60 % des éléments hydrosolubles de la phase volatile et 25 % des éléments insolubles sont absorbés. La phase gazeuse est absorbée pour environ 15 %.

Les auteurs se sont alors proposés de déterminer la rétention par les poumons de divers composés de fumée de cigarette inhalée profondément. Les expériences furent réalisées sur des hommes qui inhalaient une bouffée "standard". La quantité des différents composants fut déterminée dans l'air exhalé et comparée avec la quantité présente dans une bouffée de fumée similaire, tirée directement des cigarettes.

On put observer (voir tableau) :

- une rétention presque totale pour l'isoprène et l'acétaldéhyde,
- une rétention légèrement plus basse pour l'acétone, l'acétonitrile, le toluène,
- une rétention d'environ 95 % pour les éléments particulaires,
- une rétention de 54 % pour le CO (contre 3 % pour la cavité buccale).

Il n'existe pas de corrélation apparente entre la rétention et l'hydro-solubilité.

Les auteurs notent que la rétention observée pour le CO est en accord avec de nombreuses études précédentes (dont HALDANE 158), ainsi que la notion d'une rétention très haute de la phase particulaire de la fumée de tabac (337), (une certaine partie des éléments volatiles serait liée à la phase particulaire, ce qui expliquerait l'augmentation de la rétenti des composants gazeux lorsqu'il existe une haute absorption des composés particulaires).

On voit donc que la composition de la fumée inhalée profondément diffère de celle sortant directement de la cigarette. Cette étude montre, une fois de plus, l'importance en matière d'expérimentation de l'utilisation de méthodes d'exposition s'approchant des conditions du fumeur.

Composé	Hydrosolubilité	Point d'ébullition (c)	Rétention en %	Absorption buccale en %
Acétaldéhyde	+	21	99 ± 1,2	60
Isoprène	-	34	99 ± 0,6	20
Acétone	+	56	86 ± 5,5	56
Acétonitrile	+	85	91 ± 4,1	74
Toluène		111	93 ± 4,4	29
Particules	...	...	96 ± 3,1	16
CO	-	...	54 ±12,7	3 ± 0,7

Rétention pulmonaire des éléments de la fumée de cigarette d'après DALHAM & Coll. (81)

ELMENHORST (112) détermina la rétention de la nicotine par les poumons de hamsters exposés à la fumée de cigarette (la nicotine était extraite du tissu pulmonaire, homogénéisée au moyen d'un mélange d'acide chlorhydrique et de méthanol, puis déterminée spectrophorométriquement). La quantité de nicotine retenue augmentait avec le nombre des cigarette et la durée de l'inhalation.

5 - Consommation d'oxygène par le poumon

KOLBERG (204) étudia la consommation d' O2 par le tissu pulmonaire broyé de rat en présence de fumée de cigarette. Les tissus exposés et les témoins respirent de façon comparable, durant 42 minutes. A partir de ce moment, le tissu traité utilise moins d'oxygène. Lorsque la fumée de cigarette était insufflée dans le poumon de rat avant qu'il ne soit broyé, le tissu respirait de façon semblable au témoin pendant 55 minutes; après, la consommation diminuait pour le tissu exposé. Lorsque les rats anesthésiés recevaient de la fumée de cigarette par un tube trachéal, le tissu pulmonaire obtenu et broyé respirait plus faiblement que celui des témoins. Ces résultats indiqueraient une altération du sytème mitochondrial. La fumée de tabac pourrait altérer la perméabilité membranaire, génant ainsi la diffusion de l'oxygène, ou bien la fumée de tabac alcaline pourrait affecter les riboprotéines du cytoplasme. Ces deux phénomènes pourraient être associés.

Certains auteurs ont rapporté une augmentation de la consommation d'oxygène par le poumon en présence de petites quantités de nicotine. L'effet serait contraire lorsqu'augmenteraient les doses de nicotine (222).

ROSENKRANTZ & SPRAGUE (324) observèrent peu ou pas

d'effet sur la consommation en O_2 lors de l'exposition de souris à la fumée de cigarette.

Action du tabac sur les mécanismes biochimiques ou enzymatiques de la cellule

GREEN et CAROLIN (142) travaillant in vitro sur une préparation de cellules macrophagiques provenant de poumons de lapins, et étudiant l'action dépressive de la fumée sur les macrophages (voir chapitre activité macrophagique), tentèrent de préciser les mécanismes biochimiques.

Les auteurs pensent que la fumée exerce une action cytotoxique, mise en évidence sur les macrophages alvéolaires et d'autres systèmes in vitro. Cette action directe, immédiate et apparemment non léthale, indiquerait un effet inhibiteur sur les mécanismes biochimiques ou enzymatiques de la cellule, peut-être par un seul ou seulement quelques composants de la fumée. Le composant actif aurait été localisé d'abord dans la fraction gazeuse et hydrosoluble; ceteffet cytotoxique pourrait par conséquent être distingué de l'effet carcinogène qui, lui, est rapporté comme étant relatif à la fraction organique et au goudron de la fumée.

Action du tabac sur le contenu en certaines substance du poumon

Glycogène :

ROSENKRANTZ & SPRAGUE (324), soumettant des souris (souche Swiss albinos) à l'inhalation de fumée totale ou de la phase vapeur, constatèrent une augmentation du glycogène (+45 % chez la femelle, + 35 % chez le mâle) pour la fumée totale, et

une diminution du glycogène pour la phase vapeur.

Lactate :

Ces mêmes auteurs observèrent, dans les mêmes conditions expérimentales, une augmentation de 29 % du contenu du poumon en lactate, accompagnant l'augmentation du glycogène lors de l'emploi de la fumée totale.

Cette augmentation était réversible lors de l'emploi de la phase gazeuse.

Ceci suggégerait une gêne à l'oxydation du lactate ou une augmentation de la glycolyse anaérobie. Il est possible que l'augmentation en lactate soit due à la participation métabolique des macrophages infiltrants.

Lipides - Calcium :

LUPU & VELICAN (251), effectuant des dosages biochimiques et biologiques de diverses substances du parenchyme pulmonaire de cobayes et de lapins inhalant de la fumée de cigarette (de façon quotidienne, durant des périodes allant de 3 à 6 mois),constatent une augmentation évidente des lipides et du calcium.

AUERBACH & Coll. (14 - 15) notent, chez des chiens fumeurs, une surcharge lipidique pulmonaire (granulations lipidiques).

La fumée de cigarette pourrait créer des modifications dans la qualité des lipides pulmonaires (diminution du contenu en acide linoléique et oléique) de poumons de rats exposés à la fumée de cigarette (100, p. 82/3).

Action du tabac sur la synthèse protéique

LUPU & VELICAN (251) rapportèrent l'apparition dans les poumons d'animaux soumis à la fumée de cigarette (au bout de 60 jours d'inhalation), d'une substance de nature mucopolysaccharidique, constituée par de l'acide hyaluronique combiné à une protéine contenant du tryptophane. Ceci survenait dans l'interstice conjonctif du poumon, surtout les parois alvéolaires, ainsi que dans la tunique interne des vaisseaux, dans le cytoplasme de quelques macrophages. Cette substance disparaît après 90 jours d'inhalation remplacée par des fibres collagènes néoformées PAS-et non métachromatiques.

LAMB & Coll. (217) constatent une altération de l'histochimie d'une glycoprotéine produite par les cellules à mucus, associée à une augmentation d u nombre des cellules à mucus, chez le rat soumis à la fumée de cigarette.

YEAGER (410) utilisent des macrophages alvéolaires (lapins), en suspension dans une solution salée de Hankes, mis en incubation à 37°, avec pour substrat de la leucine marquée au carbone 14. La fumée de cigarette causerait un effet dépresseur sur la synthèse protéique des macrophages alvéolaires du lapin. Il n'y aurait pas d'effet sur le turn-over de protéines nouvelles synthétisées.

LEUCHTENBERGER & Coll. (238 - 239 - 240 - 241), exposant des souris à la fumée de cigarette (souris albinos CF), étudient les modifications histo-pathologiques, cytologiques et cytochimiques de l'arbre respiratoire. Ils observent une augmentation préc[illegible] des protéines nucléaires des cellules de l'épithélium bronchique, survenant avant même les lésions histopathologiques, puis une augmentation progressive du contenu en

DNA du noyau des cellules en prolifération.

Après arrêt de l'exposition, le DNA et les protéines intranucléaires reviendraient à un taux normal : il y aurait réversibilité des lésions cytochimiques.

Ces auteurs (234 - 235) étudièrent ces modifications aussi après exposition au virus influenza (avec ou sans fumée de cigarette). Dans tous les cas, il y avait augmentation modérée du DNA et RNA intra-cellulaire et des protéines.

Chez les souris exposées au virus seul ou en combinaison avec la fumée de cigarette, il fut noté une augmentation considérable de RNA intracellulaire anormal avec absence de mitose et avec destruction cellulaire, précédant les proliférations atypiques des autres cellules.

ALEXANDROV (5) a rapporté une diminution du rapport RNA/DNA, dans les poumons de rats enfermés pendant un temps prolongé.

ROSENKRANTZ & SPRAGUE (324) observèrent une augmentation du DNA (sans modification en RNA), dans les poumons de souris exposées à la fumée totale ou à la phase vapeur.

Action du tabac sur la libération d'histamine par le poumon

LUPU & VELICAN (251) notèrent chez le cobaye et le lapin une augmentation du taux d'histamine pulmonaire, après inhalation de fumée de cigarette (quotidiennement pendant 3 à 6 mois). Ces auteurs posent le problème de la relation entre la libération d'histamine et l'apparition d'une "sclérose" pulmonaire ("sclérose" pulmonaire

L'administration d'histamine, directement dans l'appareil respiratoire, produit une fibrose pulmonaire (sans aucune inhalation de substance irritante). L'injection préalable de phénergan, avant l'inhalation de fumée, montre une libération d'histamine diminuée.

SAINDELLE & Coll. (332) ont montré que la phase hydrosoluble de la fumée possédait in vitro une propriété histaminolibératrice (incubation de fragments de poumons de cobaye en présence de la phase hydrosoluble de la fumée). Cette propriété aurait été également retrouvée avec des fragments macroscopiquement sains de parenchyme pulmonaire prélevés chez l'homme au cours d'interventions chirurgicales pour tuberculose pulmonaire. La libération d'histamine semblerait liée principalement à l'action de l'éthanal. On a vu que cet aldéhyde est capable, selon GUILLERM & Coll. (155) de provoquer un bronchospasme.

DOUGLAS & Coll. (107) étudient in vivo et in vitro chez le cobaye la libération d'histamine sous l'influence de la fumée de cigarette. Il semblerait que des quantités significatives d'histamine ne soient libérées que dans les expériences in vitro sur des fragments de poumon de cobaye, lorsque les cellules sont endommagées.

Variation du poids des poumons soumis à la fumée de cigarette

ROSENKRANTZ & SPRAGUE (324) constatèrent une augmentation du poids des poumons de souris albinos Swiss exposées à la fumée. La suppression des particules éliminerait les modifications.

Les auteurs pensèrent qu'il pouvait s'agir :

- d'une infiltration par les macrophages,
- d'une augmentation des processus de synthèse,
- du dépôt des particules de fumée,

ou de la combinaison de ces 3 phénomènes.

Histologiquement, l'infiltration macrophagique survenait seulement chez les souris exposées à la fumée totale. De plus, l'augmentation de la teneur en glycogène des poumons, surtout observée avec la fumée totale, pourrait contribuer à cet accroissement du poids.

7 - Activité muco-ciliaire

Le drainage physiologique de l'arbre bronchique est assuré par le mucus qui, mis en mouvement par la ciliature sous-jacente, constitue le courant ciliaire (173).

Le tapis muqueux comportant les impuretés recueillies est ainsi propulsé vers le carrefour oesophagien, grâce au battement automatique et polarisé des cils (151).

Au cours de sa progression, le courant ciliaire rencontre un certain nombre d'obstacles naturels :

- ilôts squameux
- orifices bronchiques
- cordes vocales.

Son ralentissement peut survenir dans ces zones et peut être augmenté par la présence de polluants atmosphériques de fumée de cigarette (celle-ci pouvant même aller jusqu'à un

arrêt temporaire), facilitant ainsi l'action d'agents nuisibles (substances cancérigènes en particulier) (172 - 206).

Il est probable que la plupart des particules ayant accès aux alvéoles et aux bronchioles alvéolaires sont éliminées par phagocytoses et rejetées de l'arbre bronchique dans l'oesophage. Certaines gagnent les tissus interstitiels, les ganglions et canaux lymphatiques (173).

Nous étudierons ainsi l'action du tabac successivement sur l'activité mucociliaire (et la production du mucus), sur l'activité macrophagique, et, enfin, sur la résultante de ces deux mécanismes, l'épuration pulmonaire.

L'activité muco-ciliaire, par son mécanisme de défense de l'appareil respiratoire contre les impuretés inhalées et son rôle dans le maintien d'une fonction respiratoire normale, est d'une extrême importance (34 - 171 - 73 - 304).

En outre, l'altération de cette fonction peut intervenir de façon indirecte dans la pathogénèse du cancer bronchopulmonaire. Ceci a été suggéré, étudié par de nombreux auteurs et semble indiscutable (73 - 400).

L'activité muco-ciliaire peut être altérée de diverses manières :

- anomalies du fonctionnement ciliaire
- modifications des caractéristiques du mucus.

C'est ainsi que la ciliature peut être raréfiée, les battements ralentis ou même arrêtés, tandis que le mucus peut voir sa composition, sa consistance modifiées (mucus peu ou trop abondant, mucus sec, épais, visqueux) (58).

Il apparaît dans la littérature que les méthodes appréciant l'activité muco-ciliaire se sont basées :

- sur l'observation directe des battements ciliaires,
- sur la détermination de la vitesse du transport muqueux (327) (elle dépend de la viscosité de la couche muqueuse, de la fréquence du battement ciliaire, de la fonction sécrétoire des cellules à mucus (58).

Or, très souvent, l'indépendance ou l'interdépendance des phénomènes constituant cette fonction a été ignorée (58 -78).

Il faut donc toujours avoir présente à l'esprit la corrélation existant entre la motilité ciliaire, les propriétés du mucus et la vitesse de transport muqueux, lorsque l'on choisi une méthode d'observation, un type de préparation, dans le cadre d'une expérimentation (327).

Les travaux expérimentaux tendant à montrer l'effet ciliotoxique de la fumée de tabac ou de ses composants ont aussi bien porté sur des systèmes in vitro que sur des systèmes in vivo (199-200) et concernent des espèces animales variées.

Les études in vitro ont nécessité l'observation de techniques expérimentales rigoureuses : l'activité des fragments trachéaux est en effet très sensible à certains facteurs (température-pH-humidité), ainsi que l'ont étudié GUILLERM & Coll. (153-154) et BATTISTA et Coll. (31).

Le mode d'administration a, lui aussi, été varié allant de la simple projection de fumée sur la trachée aux complexes machines à doser la fumée (78), utilisant de la fumée, de substances, gazeuses ou en solution.

Appréciation de l'activité muco-ciliaire

1 - Par le transport muqueux :

a - La vitesse d'écoulement du flux muqueux peut être déterminée par la mesure de la vitesse de transport de particules microscopiques déposées sur le système étudié.

A l'aide d'un microscope, on détermine le temps nécessaire pour que les particules parcourent une certaine distance (198).

La vitesse peut ainsi être calculée (124-198-262) dans les conditions normales et dans les conditions d'exposition afin de découvrir les éventuelles variations causées par l'agent testé (327).

Cette technique peut être appliquée aux systèmes in vitro et aux systèmes in vivo :

- in vitro, sur des préparations trachéales inclinées de mammifère. BATTISTA (31) et KENSLER (198) observent le mouvement des particules entraînées par l'activité ciliaire contre la force de gravité.

- in vivo, les particules sont déposées sur l'épithélium de l'animal anesthésié, à travers une fenêtre trachéale obturée par une plaque de plexiglas (151) ou [illegible] dans la trachée (33).

Nature des particules traceuses employées :

Il peut s'agir :

- de particules de suie.

- d'un mélange de particules de suie ou de noir de fumée ou de charbon activé et de spores de Lycopodium (58-198)

- de particules microscopiques de charbon siliconé (151).

Des substances radio opaques (sulfate de baryum) ont aussi été insufflées chez des animaux vivants et leur transport suivi, grâce aux rayons X (118-375), de même, on a pu observer le mouvement de particules colorées (376-293).

Plus récemment, on relève l'utilisation de particules radioactives (307-133).

QUINLAM & Coll. en 1969 (307) décrivent une technique pour étudier l'activité mucociliaire nasale chez l'homme (envisageant d'appliquer cette méthode, par la suite, à l'arbre trachéo-bronchique) : détection externe d'une petite particule marquée, unique, placée sur la muqueuse nasale, dont le mouvement est observé.

FRANCES et ALLESSANDRO (133) utilisent de la même manière le déplacement de particules radioactives chez l'âne.

Cette technique utilisant des particules est relativement simple. Il est pourtant nécessaire de toujours tenir compte de la nature, de la taille et du poids des éléments utilises, ceci ayant une influence sur la vitesse de transport (200-358).

De même, lorsque des particules sont insufflées, il faut utiliser des quantités modérées, sinon le mécanisme normal d'élimination pourrait être entravé (216).

b - <u>Par le battement ciliaire</u> :

Il peut être étudié chez l'animal in vivo.

La ciliature d'un animal trachéotomisé est visible grâce à un microscope à lumière incidente (schéma). Le battement est observé par la lumière réfléchie intermittente, qui est enregistrée par une caméra. Le film ainsi obtenu peut être projeté à vitesse réduite : le mouvement ciliaire devient alors nettement visible et sa fréquence peut être appréciée (75 - 83 - 90).

Les valeurs normales du battement ciliaire chez l'animal non exposé ont pu être déterminées et, après 2 heures d'observation, aucune différence significative entre les diverses fréquences n'a pu être relevée (78).

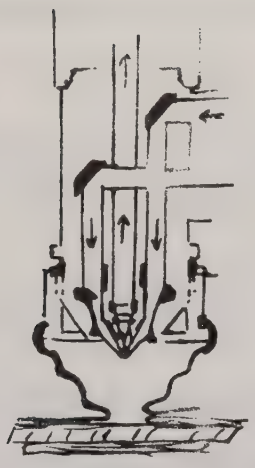
D'autres méthodes ont été utilisées :

- méthode stroboscopique (212). C'est une méthode précise, pour une surface épithéliale donnée; on peut obtenir rapidement la fréquence du battement ciliaire par adaptation de la fréquence du stroboscope à celle de la ciliature.

En fait, BALLENGER & Coll. (30) et DALHAM (73) ont montré que cette méthode présentait une assez large erreur expérimentale.

WALKER & KIEFER (381) mesurèrent le battement ciliaire chez la moule in vitro. Un stroboscope était synchronisé avec les mouvements ondulatoires de la ciliature, permettant la mesure quantitative de tout changement dans la fréquence ciliaire. Celle-ci était mesurée selon les auteurs avec une erreur de moins de 1 %.

- méthode photoélectrique décrite par RYLANDER en 1963 (326-327). La lumière intermittente réfléchie à partir de



Microscope à lumière incidente

d'après DALHAMN (75)

l'épithélium provoque des variations de voltage dans une cellule photoélectrique. La fréquence des variations de voltage qui correspond à la fréquence du battement ciliaire peut être enregistrée sur un oscilloscope.

Le principal ennui de ce système est sa grande sensibilité aux vibrations (d'où les difficultés lorsqu'il s'agit de systèmes in vivo, où les mouvements respiratoires font bouger l'épithélium).

GUILLERM & Coll. (152) décrivent aussi la photo-oscillographie comme mesure précise de la fréquence du battement ciliaire.

ANGUERA et VIART (8) propose l'oscilloscopie pour observer la déformation du film muqueux entraîné par la ciliature sur la surface des tissus (trachée de grenouille, mouton ou porc).

Résultats observés

De nombreuses expérimentations se sont essayées à démontrer l'effet toxique de la fumée de cigarette sur l'activité muco-ciliaire (151-86-87-91).

Une fois celui-ci connu pour la fumée totale (58-74-151-158-171-198), il restait à déterminer si l'inhibition ciliaire observée était due principalement à l'effet non spécifique des particules ou à des composés spécifiques de la fumée (404).

Des études ont été faites pour fractionner la fumée de tabac, afin de connaître la phase la plus nocive (151). Puis, à l'intérieur de la phase elle-même, les divers éléments furent testés, tout en sachant que, une substance pure se révélant ciliotoxique, pouvait avoir, au sein de la fumée, une activité

différente (ou l'inverse)(36-381).

Ainsi, BERNFELD & Coll. (36) montrèrent que la vapeur de phénol, ciliotoxique dans la fumée, est dépourvue d'activité si elle est testée seule.

Fumée totale

Dès 1937 (262) et 1940 (263), MENDENHALL & SHREEVE observèrent le mouvement des particules de carmin sur la muqueuse d'une trachée de veau immergée dans une solution de Tyrode, soumise à l'action de la fumée totale. La fumée entrait en contact avec la trachée principalement par sa dissolution dans une solution de Tyrode. Alternativement, la fumée était insufflée le long de la trachée, qui était ensuite placée dans la solution de Tyrode. Dans toutes les expériences, le temps de transport était réduit de 17 à 40 % de la normale.

En 1952, RAKIETEN & Coll. (311) utilisèrent une méthode similaire pour étudier l'action de la fumée de cigarette sur la ciliature de l'épithélium respiratoire humain, de lapins et de rats, placés dans une solution de Locke-Ringer.

Que ce soit in vitro ou in vivo, l'effet inhibiteur de la fumée totale sur la fonction muco-ciliaire fut démontré

- In vitro :

HILDING (171) observe l'arrêt des mouvements ciliaires d'explants de trachées de bovins soumis à une solution de Ringer et de fumée.

DALHAM (74) confirme ceci chez le rat : après con-

tact avec la fumée d'une seule cigarette, le mouvement ciliaire cesse chez 7 rats sur 10. Des résultats semblables furent obtenus sur les trachées prélevées chez des lapins, et sur des préparations humaines (prélèvements bronchiques).

GUILLERM & Coll. (151) notent un arrêt du déplacement du tapis muqueux après 1 à 5 minutes de contact sur des trachées de moutons ou de chèvres. Le mouvement reprenait sa marche après substitution d'air à la fumée (toutefois, la vitesse restait inférieure à la vitesse initiale).

Le battement ciliaire était lui aussi stoppé en 1 à 5 minutes par la fumée (expériences portant sur des anneaux de trachée de rats placés dans une cellule à perfusion). Ces auteurs observent que la dilution de la fumée ne modifie pas l'effet et concluent que c'est la quantité de fumée qui intervient, plus que sa concentration.

KOTIN & FALK (207) notent, sur un système in vitro, par observation indirecte, après exposition à la fumée, une rapide période d'accélération du transport muqueux (maximum en quelques secondes), puis une seconde phase faite d'un ralentissement rapide. Le ralentissement se poursuivait pour atteindre son point le plus bas 16 minutes après exposition de l'épithélium. La reprise de l'activité se faisait environ en 30 minutes, durée à la fin de laquelle la vitesse était revenue à la normale ou s'était stabilisée à un autre niveau.

KENSLER & BATTISTA (198) étudient le mouvement des particules déposées sur des préparations de trachées de lapins soumises à la fumée de cigarette. Ils étudient en particulier l'ED 50 (c'est-à-dire la dose pour laquelle une diminution de 50 % du mouvement ciliaire était obtenue). Dans ce cas, l'ED50

était atteinte pour moins de 3 bouffées.

L'inhibition était complète à la 3ème ou 4ème bouffée.

- In vivo :

GUILLERM & Coll. (151) administrent des bouffées de fumée diluées dans l'air trachéal à des chiens (temps de contact : 3 secondes toutes les 30 secondes). Ils observent d'abord une accélération fugace de la vitesse du tapis muqueux (environ 10 %) puis un ralentissement progressif aboutissant à un arrêt complet au bout de 3 à 7 cigarettes (soit en 20 à 40 minutes).

CARSON & Coll. (58) observent le mouvement des particules chez des rats anesthésiés soumis à de la fumée totale diluée dans l'air : une concentration inférieure à 3 mcg/ml de fumée de cigarette réduit la vitesse de 50 % dans la trachée

FUmée de cigare

DALHAMN & RYLANDER (90) comparèrent les effets de la fumée de cigarette et de cigare chez le chat in vivo : le nombr moyen de bouffées nécessaires à l'arrêt de la motilité ciliaire était de 73 pour la cigarette et de 114 pour le cigare (différence statistiquement significative).

Fumée de papier de cigarette

BOCHE & QUILLIGAN (42) observent, sur des cultures de tissu de trachée de poulet et d'épithélium bronchique humai une inhibition de l'activité ciliaire sous l'influence de la fumée de papier de cigarette.

GUILLERM & Coll. (151) constatèrent que l'effet inhibiteur du tabac n'était pas spécifique : en particulier la fumée de pyrogénocombustion du papier de cigarette arrête le mouvement ciliaire (encore plus rapidement que le tabac). L'effet inhibiteur est aussi observé avec le papier-filtre et le coton.

Effet de la durée d'exposition

FALK & Coll. (124) travaillant sur un système in vitro, constatent une réponse moins importante pour une exposition de courte durée (2 secondes) que lors d'une exposition de 30 secondes, pour la phase d'accélération (voir plus haut). Seules de petites différences seraient observées pour les phases d'inhibition et de rétablissement de la fonction mucociliaire.

Effets d'expositions répétées

FALK & Coll. (124 - 207), utilisant des systèmes in vitro, procèdent à des expositions répétées afin d'essayer de se rapprocher de la situation humaine.

L'intervalle entre les applications de solution de fumée variait de 2 à 30 secondes. Dans tous les cas, après une minute, se produisait une accélération du transport des particules, ceci étant plus net pour les cigarettes pauvres en goudron, contrastant avec l'effet suivant une simple exposition.

Importance de l'intervalle séparant des inhalations de fumée

DALHAMN& RYLANDER (83 - 84) proposent d'étudier

l'effet des périodes de repos entre l'administration de fumée de cigarette à des animaux in vivo.

Sans intervalle libre entre les cigarettes, une moyenne d'environ 91 bouffées provenant de cigarettes sans filtre était nécessaire pour produire une ciliostase, contre une moyenne de 191 bouffées pour les cigarettes à filtre.

Avec un intervalle de 15 minutes entre les cigarettes, les valeurs respectives étaient d'environ 169 et 257.

Des valeurs intermédiaires étaientobtenues avec des intervalles de temps intermédiaires.

Variations en relation avec la méthode d'exposition

FALK & Coll. (124), KOTIN & FALK (207) notent, sur des préparations d'épithélium respiratoire in vitro, que les réponses qualitatives sont les mêmes lors de l'exposition par simple passage passif ou par projection directe. Cependant, les effets de la projection étaient plus grands en intensité et en durée.

La réponse à l'application de solution aqueuse de fumée est semblable à celle observée avec les aérosols.

Réponse en relation avec la dose

KOTIN & FALK (207), DALHAM & RYLANDER (88) montrent qu'il existe une relation entre la dose administrée et la ciliostase induite par la fumée totale, aérosols, solution de fumée ou composés volatiles.

Importance de la phase gazeuse

La filtration mécanique de la phase particulaire (coton hydrophile, filtres commerciaux, papier filtre, perles de verre) se révèle inefficace, d'après les expériences de GUILLERM & Coll. (151). La phase gazeuse se révélait tout juste un peu moins active lorsqu'on employait un filtre particulièrement serré.

De même, pour KENSLER & BATTISTA (198 - 200), la plus grande partie des substances ciliotoxiques se trouve dans la phase gazeuse :

- aucune différence significative ne fut observée entre les effets dépresseurs de la fumée totale et ceux de la phase gazeuse (obtenue à l'aide d'un filtre Cambridge) (198), (ceci sur la trachée de lapin in vitro en chambre d'exposition)

- sur une préparation de trachée de lapin dans une solution de Tyrode, une inhibition de 50 % de la motilité ciliaire était obtenue par introduction de la phase gazeuse (obtenue avec un filtre Cambridge), provenant de 4 cigarettes (200).

- l'usage du filtre à charbon de bois, qui retient une partie de la phase gazeuse, réduit beaucoup l'activité dépressive de la fumée.

IZARD & Coll. (189) montrent que la phase gazeuse de la fumée a un effet ciliotoxique sur l'algue "Dunaliella bioculata". Ils étudient par la suite la phase particulaire (obtenue par un filtre Cambridge). Celle-ci se montre moins active que la phase gazeuse : avant de provoquer une immobilisation totale, on observait une fréquence anormale de la vibra-

tion cellulaire, sans changement d'amplitude, ce qui ne survenait pas avec la phase gazeuse.

Importance de la phase particulaire

DALHAMN& RYLANDER (85), au contraire, affirment que la ciliostase est fortement conditionnée par la concentration de la fumée en goudron, nicotine et phénols (présents surtout dans la phase particulaire).

Ces résultats s'accordent d'ailleurs avec ceux de WYNDER & Coll. (404) et de BERNFELD & Coll. (36), qui rapportèrent que la fumée de cigarette contenant peu de "goudron" possédait une activité ciliostatique moindre.

FALK & Coll. (124), KOTIN & FALK (207), procédèrent à des études comparatives entre des cigarettes de 2 types : l'une riche en condensat, l'autre pauvre. Seules des variations minimes dans la réponse furent observées et limitées seulement à la courte phase de stimulation de l'activité (voir plus haut) : la stimulation était plus intense pour les cigarettes riches en goudron. Les phases suivantes (inhibition, rétablissement de la fonction ciliaire) étaient semblables dans les deux cas.

DALHAMN& RYLANDER (85) pensent que les résultats en faveur d'une prépondérance de la phase gazeuse en matière de ciliotoxicité sont dus surtout aux conditions expérimentales qui seraient, dans ce cas, assez éloignées des conditions naturelles.

Pour KAMINSKI & Coll. (195), les phases particulaire et gazeuses ont toutes deux des propriétés ciliostatiques.

Comparant fumée de cigare et fumée de cigarette, DALHAMN& RYLANDER (90) observèrent que la ciliostase était obtenue plus rapidement avec la fumée de cigarette.

Or, :

- les composés volatiles sont en plus grande quantité dans la fumée de cigare (sauf pour l'acétaldéhyde),

- quant aux particules, elles sont en quantités à peu près égales, si l'on emploie une méthode gravimétrique (par la méthode flurométrique, les résultats sont inférieurs).

Ces résultats montrent que, pour deux fumées de tabac, celle qui a la plus grande concentration de composés volatiles est la moins toxique. Ce qui veut dire que le degré de ciliotoxicité de la fumée n'est pas nécessairement en corrélation avec la quantité d'une ou de plusieurs substances dans la fumée. Si ces composés volatiles avaient été les éléments les plus ciliotoxiques dans la fumée, la fumée de cigare aurait dû être plus toxique que la fumée de cigarette. De même, si la phase particulaire avait été le composant le plus ciliotoxique, la ciliotoxicité des deux fumées de tabac aurait dû être à peu près égale.

DALHAMN& RYLANDER insistent (plus que sur la question de savoir si c'est la phase gazeuse ou la phase particulaire qui est la plus toxique), sur le fait que le pH de la fraction hydrosoluble de la matière particulaire est alcalin dans la fumée la moins toxique, suggérant ainsi de nouvelles possibilités pour expliquer l'effet ciliotoxique de la fumée.

KAMINSKI & Co.l. (195) montrèrent le rôle important des composés hydrosolubles dans la ciliotoxicité, sans toutefois

étudier le pH des solutions.

Emploi des diverses fractions du condensat

On avu le fractionnement du condensat selon WYNDER & Coll. (voir chapitre II-A).

Les fractionsainsi obtenues furent testées sur l'épithélium cilié de moules (404).

A une concentration de 1 %, les fractions acide et acide faible stoppent immédiatement l'acitivté ciliaire.

La fraction insoluble nécessite 3 minutes pour produire la ciliostase et la fraction basique 10 minutes.

La fraction neutre n'induit pas de ciliostase.

Soit, par ordre décroissant d'activité, les fractions acide, acide faible, insoluble, basique, neutre.

Or, l'effet ciliostatique du condensat total est très inférieur à la somme des effets de ces 5 fractions.

WYNDER & Coll. en donnent plusieurs explications :

a - dans le condensat total, les composants ciliostatiques sont seulement partiellement présents sous forme libre. Par exemple, la plus grande partie de la nicotine et de la nornicotine serait neutralisée par les acides organiques.

b - la variation de pH du condensat total : il varie de 6,6 à 7,0.

c - de plus, malgré toutes les précautions prises lors du fractionnement, l'hydrolyse d'esters, ainsi que d'autres réactions secondaires

Hydroquinone - Benzoquinone

IZARD & Coll. (190), montrèrent que l'hydroquinone était active sur l'algue Dunaliella bioculata (à une concentration de 0,8 mcg/ml). Cette action augmentait avec le temps (résultant de la formation de P-benzoquinone). La benzoquinone était active à des concentrations moindres (0,6 mcg/m

GUILLERM & Coll. (150) testèrent l'effet de ces deux substances sur l'activité ciliaire de la muqueuse trachéale in vitro.

La benzoquinone leur apparaît comm e deux fois plus toxique que l'hydroquinone.

La présence d'hydroquinone dans la phase particulaire de la fumée de cigarette (environ 70 mcg/cigarette) pourrait expliquer en partie l'effet ciliotoxique observé in vivo sur l'épithélium trachéal (74 - 151).

L'hydroquinone serait surtout responsable car la transformation de celle-ci en benzoquinone dépend du pH : or, celui du mucus est à pH 7 et, pour cette valeur, peu d'hydroquinone se transforme.

Nicotine

Elle ne semble avoir que peu d'action sur la ciliature. BALLENGER & Coll. (28 - 29) ont, en particulier, tenté de préciser son rôle sur des cellules ciliées de l'épithélium respiratoire humain.

RAKIETEN & Coll. (311) étudièrent l'action de la nicotine à diverses concentrations sur l'épithélium respira-

toire du rat, du lapin et de l'homme. L'arrêt de la ciliature apparaît en 5 à 10 minutes, pour une concentration de 1/50 à une température de 28 ± 2°C.

A 35°, la toxicité apparaît plus rapidement.

BOCHE & QUILLIGAN (42) constatèrent que la nicotine à la concentration trouvée dans la fumée de cigarette n'était pas ciliotoxique.

KOTIN & FALK (207), étudient in vitro 3 fractions, une fraction nicotinique, une fraction liposoluble, pauvre en nicotine, une fraction hydrosoluble. Les effets de la fraction nicotinique étaient les plus marqués.

Pour GUILLERM & Coll. (151), la nicotine ne joue pas un rôle prédominant : "la pulvérisation de sulfate de nicotine en solution commerciale à 40 % sur des trachées de mouton in vivo n'entraîne pas de modifications notables de la vitesse de translation du tapis muqueux. Les vapeurs de nicotine en équilibre avec cette solution n'ont pas plus d'effet"

WYNDER & Coll. (404) constatent que la nicotine à la concentration de 1 % ne provoque pas de ciliostase immédiate (ciliature de moule). Pour une concentration de 0,5 %, la réponse de la ciliature serait similaire à celle obtenue avec de l'eau distillée.

Une inhibition de 50 % de l'activité de transport ciliaire (trachée de lapin) est obtenue pour des concentrations approximativement de 10^{-2}M. (200). Des condensats de fumée de cigarette ayant une quantité de nicotine variant de 2,98 % à 0,83 % ne montrent pas de différence significative dans leur activité inhibitrice. Tout ceci porte KENSLER & BATTISTA (200)

à penser que la nicotine n'est pas l'agent majeur de la ciliotoxicité.

CARSON & Coll. (58) observent chez le chat anesthésié, une activité mucostatique plus importante pour 2 des sels de la nicotine que pour la nicotine seule.

CO - CO_2

CO : Il n'a pas d'effet ciliotoxique, même à la concentration de 5 p. 100 (151).

CO_2 : D'après GUILLERM & Coll. (151), il aurait une certaine influence, sa grande solubilité lui permettant d'atteindre rapidement la cellule ciliée à travers le mucus, et d'en modifier le pH. Aux concentrations correspondant à celles de la fumée, il se produit in vivo une diminution de l'activité ciliaire, en quelques minutes, de 10 à 30 %. Mais en aucun cas, il ne l'arrête.

Pour GUILLERM & Coll. (151), il concourt dans une faible mesure à la ciliotoxicité : la fumée privée du CO_2 (par passage sur la chaux sodée), conserve d'ailleurs son activité.

NO_2

D'après KENSLER & BATTISTA (198), il serait actif sur la ciliature : l'ED 50 sur une préparation de trachée de lapin, est obtenue avec 8 bouffées de fumée à des concentrations de 50 microg./bouffée (ce qui est 2 à 3 fois la concentration du NO_2 dans la fumée de cigarette).

Phénol et dérivés du phénol

Ils sont présents dans la phase gazeuse et pour 10 % dans la fraction phénolique du condensat (404).

WYNDER & Coll. (404) rapportent que les phénols à la concentration de 1 % provoquent une ciliostase immédiate (ciliature de moule). Pour une concentration de 0,5 % , une forte inhibition est constatée. Les dérivés phénoliques sont plus inhibiteurs que le phénol lui-même pour de hautes concentrations (1%).

KENSLER & BATTISTA (198) étudient la vapeur de phénol à la concentration maxima que l'on peut obtenir (4 fois sa concentration dans la fumée de cigarette) : il ne se produit pas d'ED 50 (inhibition de 50 %) pour 8 bouffées.

De plus, ces auteurs constatent que, bien que le contenu en phénol de la fumée de cigarette avec filtre soit bien inférieur à celui de la fumée de cigarette sans filtre, il n'y a pas de différence appréciable dans l'inhibition de l'activité ciliaire.

KENSLER & BATTISTA (200) concluent que le phénol peut être exclu en tant que composant significativement inhibiteur de l'activité ciliaire.

Acide cyanhydrique

Pour certains auteurs, l'acide cyanhydrique (HCN) joue un rôle primordial dans la ciliotoxicité.

KENSLER & BATTISTA (198) pensent qu'il s'agit d'un puissant dépresseur ciliaire : après exposition, in vitro,

de trachées de lapin, pendant 12 secondes à la fumée de 8 bouffées de cigarette (ce qui correspond à 20 mcg/bouffées de HCN), l'ED_{50} apparaît. Cette concentration serait moindre que celle existant dans la fumée. Mais cette dernière (50 mcg/bouffée) et de plus hautes concentrations (500 mcg/bouffée) étaient incapables de produire une inhibition complète en 2 à 4 bouffées comme le fait la phase gazeuse de la cigarette : d'autres composants doivent contribuer à la dépression ciliaire observée.

Travaillant toujours sur des trachées de lapin, KENSLER & BATTISTA (200) précisent que le cyanure est présent en quantité suffisante dans la fumée de cigarette pour rendre compte de presque la moitié de l'effet inhibiteur observé avec la fumée totale.

Pour WALKER & KIEFER (381)aussi, le HCN joue un rôle important : ceci a été montré expérimentalement (inhibition de la ciliature d'une moule : anodonta cataracta). De plus, la ciliostase est diminuée lorsque la plus grande partie du HCN est filtrée de la fumée.

Par contre, GUILLERM & Coll.'(151) trouvent que le HCN n'est pas actif sur la ciliature à la concentration de 3/1000 (la plus forte concentration trouvée dans la fumée).

Acides aromatiques

Pour WYNDER & Coll. (391), l'acide benzoïque se montrerait plus ciliotoxique que le phénol.

Acides aliphatiques

Pour WYNDER & Coll.(391), quatre acides aliphatiques présents dans la fumée de cigarette montrent une plus haute activité ciliotoxique que le phénol :

acide : formique - acétique - propionique - n-butyrique.

La ciliotoxicité des acides diminuerait avec l'augmentation du nombre de carbones du groupe alkyl et dépendrait de l'hydrosolubilité.

CARSON & Coll. (58) rapportent l'effet ciliotoxique de l'acide formique, ainsi que KENSLER & BATTISTA.

Aldehydes

1 - Aldéhydes saturés

Formaldéhyde :

L'expérimentant in vivo sur la trachée de rat, il apparaît à DALHAMN(73) comme une substance fortement ciliotoxique.

In vitro, (trachée de lapin), KENSLER & BATTISTA (198) le tiennent pour un agent actif sur la ciliature à sa concentration dans la fumée de cigarette (ED_{50} obtenue pour 8 bouffées, chacune contenant 5 microgrammes du produit, alors que, dans la fumée de cigarette, la concentration est de 2 microgrammes/bouffée).

Pour WYNDER & Coll. (381), parmi les aldéhydes saturés testés, seul le formaldéhyde possède une plus grande ciliotoxicité que le phénol.

Acétaldéhyde :

Des aldéhydes et des cétones présents dans la fumée de cigarette, c'est celui qui serait quantitativement le plus important (151). Il a la plus petite molécule et atteindrait ainsi le plus facilement les cellules ciliées. Il est le moins arrêté par les filtres, le plus hydrosoluble et le plus volatile. Il arrêterait le mouvement ciliaire en une dizaine de minutes (151).

KENSLER & BATTISTA (198) obtiennent l'ED_{50} in vitro sur une trachée de lapin pour des concentrations de 133 mcg/bouffée, ce qui correspond à 5 fois sa concentration dans la fumée de cigarette.

Pour WALKER & Coll. (381), l'acétaldéhyde semble peu contribuer à l'activité ciliotoxique. Si l'on en retient la plus grande partie par 1 filtre (hydrazide), la ciliostase ne s'en trouverait pas modifiée.

2 - Aldéhydes non saturés

GUILLERM & Coll. (151) constatent qu'aux concentrations où elle se trouve dans la fumée de cigarette (10^{-4}), l'acroléine arrête le mouvement ciliaire en une dizaine de minutes.

KENSLER & BATTISTA (198) la considèrent aussi comme un agent actif : l'ED^{50} est obtenue avec 8 bouffées, à des concentrations de 50 mcg/bouffée (2 à 3 fois la concentration rapportée dans la fumée de cigarette).

WYNDER & Coll. (391) observent une ciliotoxicité relativement haute pour 2 aldéhydes insaturés : acroléine et

crotonaldéhyde. L'acroléine serait nettement plus toxique que le phénol. Elle pourrait stopper le mouvement ciliaire (ciliature de moules) à des concentrations aussi basses que 0,1 %.

CARSON & Coll. (58) attribuent à l'acroléine le plus grand effet ciliotoxique (études chez le chat anesthésié), ainsi que IZARD & Coll. (190) (l'acroléine arrête le mouvement ciliaire de l'algue Dunaliella Bioculata Butcher par une dilution de 10^{-6}).

WALKER & Coll. (381) constatent que l'acroléine est un puissant agent ciliostatique (au moins autant que le HCN). Mais la retenue de sa plus grande partie par un filtre n'a pas d'effet sur la ciliostase (à la différence du HCN). A cela, ces auteurs proposent plusieurs explications :

a - l'acroléine pure est un puissant agent ciliotoxique mais serait inactivée en présence de fumée.

b - les méthodes d'expérimentation utilisées par les auteurs seraient en cause.

c - il est peut-être nécessaire de retenir plus de 60 à 70 % d'acroléine pour produire une diminution de la ciliostase : les 250 mcg d'acroléine présents dans la fumée filtrée pourraient avoir autant d'effet que les 70 mcg présents dans la fumée non filtrée.

GUILLERM & Coll. (151) remarquent l'effet synergique de l'acétaldéhyde et de l'acroléine mélangés enproportions correspondant à celles de la fumée de cigarette (arrêt du mouvement ciliaire en 5 minutes, c'est-à-dire pratiquement dans le même temps que la fumée).

L'action des autres aldéhydes présents dans la fumée s'ajouterait à ces deux principaux, acétaldéhyde et acroléine (151).

WYNDER & Coll. (391) donnent l'ordre d'efficacité décroissante de certains aldéhydes (testés sur la trachée de rat et l'oesophage de grenouille) :

acroléine - formaldéhyde - acétaldéhyde - propionaldéhyde - et n-butyraldéhyde.

Ammoniac

DALHAMN(73) le considère comme un puissant inhibiteur ciliaire (études in vivo sur la trachée de rat).

KENSLER & BATTISTA (198) le tiennent aussi pour un agent actif (ED^{50} obtenue en 8 bouffées pour des concentrations de 70 mcg/Bouffée, ce qui est 7 fois sa concentration dans la fumée de cigarette).

Fumée de cigarette - Ionisation et activité ciliaire

KENSLER & BATTISTA (200) rapportent que l'effet inhibiteur de la fumée de cigarette in vitro n'est pas influencé par les ions + ou - (en effet, la fumée de cigarette, bien qu'électriquement neutre, comporte des charges + ou - sur à peu près 80 % des particules).

Ceci est en contradiction avec les travaux de KRUEGER & Coll. (212) qui rapportèrent que les ions + et - influençaient de façon importante l'activité ciliaire de la trachée de lapin.

Réversibilité de l'inhibition de l'activité ciliaire

In vitro, il semble que l'acroléine soit parfois la cause d'une ciliostase irréversible (199). L'ammoniac et le HCN auraient une faible réversibilité, contrairement au formaldéhyde et à l'acétaldéhyde (200). Toujours in vitro, KENSLER & BATTISTA (200) observent que l'effet inhibiteur de la fumée de cigarette semble irréversible, sauf lorsque les expositions produisent une inhibition de moins de 50 %. Des résultats similaires sont observés avec la fumée de petits cigares.

Il se pose, là encore, le problème de l'application à l'homme de ces résultats obtenus par des méthodes assez peu physiologiques.

Le retour de la fonction ciliaire à une activité au moins partielle fut étudié in vivo chez le chat par KAMINSKI & Coll. (195) pour des cigarettes avec ou sans filtre et avec ou sans retenue des composés hydrosolubles. Au bout d'un temps donné (7,5 mn), la reprise de l'activité ciliaire est plus faible pour les cigarettes ordinaires sans filtre et les cigarettes avec filtre en acétate de cellulose. Le passage préalable de la fumée dans une enceinte humide (retenant les composés hydrosolubles) améliorait la reprise de l'activité.

Importance de l'emploi de filtres dans la réduction de la ciliotoxicité

Les expériences ont montré que les propriétés ciliotoxiques de la fumée de cigarette peuvent être grandement réduites par l'emploi de divers types de filtres.

Malheureusement, les filtres les plus efficaces sont

ceux qui diminuent le plus le goût du tabac.

Expérimentalement, KENSLER & Coll. (198) montrèrent l'intérêt de certains filtres sur des préparations d'épithélium cilié, in vitro. Ils insistent (199) sur l'importance de l'emploi de filtres appropriés contenant du charbon de bois activé pour retenir les gaz ciliotoxiques de la fumée de cigarette.

WYNDER & HOFFMAN (391) constatent, in vitro, eux aussi, l'efficacité des filtres à charbon activé, par comparaison avec les cigarettes sans filtre ou à filtre en acétate de cellulose. L'association acétate de cellulose et charbon activé possède un effet encore supérieur. L'eau est aussi un filtre actif, retenant les gaz hydrosolobles, contrairement aux filtres en acétate de cellulose ou au filtre à fibre de verre (Cambridge CM 113).

DALHAMN& Coll. (83) étudièrent in vivo, chez le chat anesthésié, l'effet de la fumée de cigarette avec ou sans filtre.

La ciliostase est plus rapidement obtenue avec des cigarettes sans filtre (77 - 83 - 84).

Pour DALHAMN& Coll. (85) le filtre Cambridge est efficace, mais diminue la saveur de la cigarette. Ceci est en contradiction avec les résultats rapportés par WYNDER & HOFFMANN (391). Là aussi, l'efficacité de l'association charbon de bois et acétate de cellulose est notée.

CARSON & Coll. (58) étudièrent chez le chat anesthésié les effets de la fumée provenant de cigarette sans filtre, avec filtres en acétate de cellulose, en acétate de cellulose et en charbon. C'est la fumée provenant de filtre en acétate de cellulose + charbon qui agit le moins sur la vitesse des particules,

puis le filtre à acétate de cellulose seul.

Il est évident que les résultats observés, particulièrement dans le cas d'expérience in vitro, ne peuvent être directement extrapolés à l'homme. Cependant, pour la plupart des auteurs, il semble bien que l'utilisation du filtre à granule de charbon réduise de façon manifeste la ciliotoxicité de la fumée.

Inhibition de la ciliotoxicité de la fumée par le citrate d'oxolamine

L'action anti-tussive et anti-inflammatoire du citrate d'oxolamine fut fréquemment démontrée chez l'homme et chez l'animal (85).

DALHAMN(79) l'administre à des chats par voie orale avant ou après exposition à la fumée de cigarette, et constate une action favorable de la substance sur l'activité ciliaire. De plus, la sécrétion de mucus semble augmentée.

En 1969, DALHAMN(80) expose des chats à la fumée de cigarette (contenant du citrate d'oxolamine - 5 % du poids de la cigarette). Certaines cigarettes possèdent un filtre en acétate de cellulose.

Le nombre de bouffées nécessaires à l'obtention de la ciliostase est mesuré dans les différents cas.

L'auteur constate l'efficacité du filtre et de l'additif, comme en témoigne le tableau récapitulatif :

Série	Addition de citrate et d'oxolamine	Filtre à acétate de cellulose	Nombre de bouffées avant la ciliostase
Série 1	+	+	45
	-	+	33
	+	-	25
	-	-	18
Série 2	+	-	47
	-	-	23
Série 3	+	-	44
	-	-	20

Au total, l'effet toxique de la fumée de cigarette sur l'activité mucociliaire a été démontré expérimentalement.

Il apparaît de nombreuses controverses au sujet des substances responsables de l'effet toxique.

En fait, il semble que des éléments de la phase gazeuse et de la phase particulaire participent à cette action (195) et, principalement, l'acroléine, l'éthanol, l'acide cyanhydrique, le NO_2, des acides organiques, la benzoquinone.

De plus, il est nécessaire de tenir compte de la technique expérimentale utilisée :

- expériences in vitro, qui nécessitent de replacer la préparation testée dans un environnement simulant le mieux possible le milieu naturel.

- expériences in vivo, se rapprochant plus des conditions réalisées chez le fumeur.

La fumée ou ses composants, testés sur des systèmes

différents, pourront voir leur action modifiée, pouvant ainsi rendre compte des divergences observées dans les résultats.

Action du tabac sur la sécrétion de mucus :

On peut l'apprécier directement :

- par recueil du mucus sur des préparations in vitro (171), ou chez l'animal in vivo (34), en comparant les quantités recueillies avant, pendant ou après l'exposition à la fumée de cigarette,

- par étude, comptage à l'aide d'un microscope des cellules à mucus (261-217).

On peut l'apprécier indirectement :

- par étude de l'activité mucociliaire (qui dépend, non seulement, du battement ciliaire mais aussi de la quantité et de la qualité de mucus produit (voir chapitre précédent),

- par étude de l'épuration pulmonaire (elle dépend, entre autres facteurs, de l'activité mucociliaire et macrophagique (voir chapitre suivant).

Résultats observés

MELLORS (261), après exposition de rats à la fumée de cigarette, constate une augmentation du nombre des cellules secrétant le mucus.

LAMB & Coll. (217) étudièrent la densité des cellules à mucus à différents niveaux de l'arbre trachéobronchique de rats soumis à la fumée de cigarette ou de cigare. Ils observèrent une augmentation similaire pour les deux types de fumée (cigarette et cigare) portant surtout au niveau de la trachée et des

voies aériennes intrapulmonaires proximales. L'augmentation est en relation avec la quantité de fumée administrée.

HILDING (171), soumettant des préparations trachée-poumon de bovidés à la fumée de cigarette, observe une sécrétion pauvre, aqueuse.

ROCKEY et SPEER (318) constatent, chez le chien inhalant de la fumée de cigarette, une très nette augmentation de la production de mucus, contribuant à l'obstruction des voies aériennes.

BATTISTA et KENSLER (34) déterminent la production de mucus chez le poulet in vivo inhalant de la fumée, par recueil des sécrétions à la partie inférieure du larynx, avant, pendant et après l'expérience.

Ainsi, pendant l'exposition à la fumée, la production de mucus augmente (0,85 à 1 g/heure contre 216 mg chez l'animal témoin). Durant la phase de récupération des mouvements ciliaires, la production diminue considérablement pour revenir à des valeurs normales (à noter que dans des expériences où l'on a seulement utilisé des bouffées d'air, il se produisait une certaine augmentation de la sécrétion : de 0,2 à 0,5 g/h).

En cas d'expositions répétées : 2 expositions par jour (1 cigarette le matin, 1 l'après-midi), 5 jours par semaine, la quantité de mucus est plus importante après la deuxième semaine qu'après la première, et supérieure après la cigarette du matin.

Les auteurs comparèrent 3 types de cigarettes :

- cigarette ordinaire,

- cigarette à filtre en acétate de cellulose,
- cigarette à filtre en acétate de cellulose, + charbon.

Aucune différence n'a pu être constatée.

La production de mucus semble donc être sans relation (ou en relation partielle) avec la sévérité de l'inhibition ciliaire, puisque la fumée des cigarettes à filtre contenant des granules de charbon de bois, bien qu'étant moins inhibitrice pour la ciliature, produit à peu près la même augmentation de mucus.

DALHAM (79) administre de l'oxolamine per os à des chats, avant et après exposition à la fumée de cigarette. IL observe, chez ces animaux, une augmentation de la sécrétion muqueuse, alors que la trachée des animaux témoins est sèche.

B - Activité macrophagique

Les macrophages

Ce sont des cellules spécialisées (LAURENZI & Coll. 229). Ils constitueraient approximativement 15 % de la population cellulaire du poumon (37).

Ils peuvent être prélevés par lavage pulmonaire : LA BELLE (216), MYRVIK (276) décrivent la technique utilisée chez l'animal.

VOISIN et MACQUET (377), PRATT (303), HARRIS (160) prélèvent les macrophages alvéolaires chez l'homme par lavage bronchique.

Ces cellules possèdent diverses activités :

1 - des activités enzymatiques : de nombreuses enzymes ont été identifiées (275-350-386) :

protéase - lipase - estérase - AT Pase...

2 - un rôle dans les phénomènes immunologiques (à la fois immunité humorale et immunité retardée) (264).

3 - des activités métaboliques :

- processus de phosphorylation oxydative afin de fournir l'énergie nécessaire à la phagocytose,
- synthèse des protéines (258-259),
- estérification du cholestérol (371),
- métabolisme des lipides : les macrophages interviendraient dans le "turn over" du surfactan (27) mais non dans sa synthèse (115).

4 - enfin, et surtout, une activité phagocytaire.

La phagocytose est un mécanisme servant à défendre la membrane alvéolaire de l'action nuisible des substances inhalées (particules infectieuses ou autres).

Dans le poumon sain, les macrophages alvéolaires sont responsables, principalement, de cette phagocytose (141) : captation des particules puis destruction secondaire par les enzymes lysosomiales (378).

Divers auteurs ont montré que de multiples facteurs (génétiques, nutritionnels, immunologiques, métaboliques, maladies chroniques, facteurs de l'environnement) peuvent nuire à l'activité des macrophages alvéolaires. En particulier, l'action dépressive de la fumée de cigarette a pu être mise en évidence.

La diminution de l'activité de ces cellules rendra ainsi les substances inhalées plus pathogènes pour la membrane respiratoire avec pour conséquences, en particulier, une plus grande susceptibilité aux infections bactériennes (109). D'autre part, les macrophages, contenant des systèmes enzymatiques lytiques, ont non seulement un rôle dans la destruction des bactéries, mais aussi la possibilité d'une fonction destructrice s'ils sont lésés (264) : modifications de la membrane alvéolaire pouvant expliquer les lésions de bronchite chronique et d'emphysème.

Dès 1958, MELLORS (261) étudiant la localisation pulmonaire des produits fluorescents de la fumée chez des rats exposés aux bouffées de 1 à 4 cigarettes par jour, nota le rôle important des phagocytes alvéolaires (et des sécrétions muqueuses bronchiques) dans l'accumulation, la redistribution et le dépôt des substances fluorescentes.

Les phagocytes augmentant en nombre, quelques-uns pénètrent dans les espaces alvéolaires et tous se chargent des produits fluorescents de la fumée. Ils passent dans la lumière des bronchioles et atteignent le larynx (où ils sont rejetés) ; d'autres sont détruits en chemin et déposent leurs substances concentrées sur la muqueuse respiratoire; d'autres pénètrent dans les lymphatiques et s'accumulent dans les ganglions voisins.

In vitro, GREEN et CAROLIN (142) montrent que de petites quantités de fumée de cigarette inhibent le système macrophagique alvéolaire et empêchent les cellules d'inactiver une préparation bactérienne. Ils testent l'effet de 5 sortes de cigarettes sur la phagocytose (influence de la taille, de la présence ou non d'un filtre, du type de filtre) et l'action des

divers composants de la fumée de cigarette.

La préparation consiste en une suspension de "staphylococcus albus", introduite dans une culture de macrophages alvéolaires provenant de lapins albinos. Le système ainsi obtenu est exposé à la fumée de cigarette.

Les auteurs tentèrent d'isoler la substance responsable :

- le formaldéhyde et l'acétaldéhyde n'inhibent jamais l'activité macrophagique, même à des doses supérieures à celles présentes dans la fumée (il faut remarquer que KENSLER et BATTISTA (198) ont montré la ciliotoxicité de ces substances),

- la nicotine, à des doses comparables à celles de la fumée, n'affecte pas les macrophages, de même que le cyanure (or, c'est une substance ciliotoxique) (198),

- la réduction de la toxicité après passage à travers un filtre de coton suggère que les éléments toxiques se trouvent plutôt dans la phase gazeuse,

- il semble s'agir d'une substance soluble : si la fumée barbote dans un tube contenant de la solution de Hankes, la toxicité en est très diminuée, alors que celle de la solution ainsi obtenue peut être démontrée,

- cette substance est labile : s'il existe un délai entre l'aspiration de la fumée et son introduction dans le milieu contenant les cellules, l'effet toxique est diminué.

Ces mêmes auteurs constatèrent que, pour une même marque de cigarettes, la courbe dose-réponse montrait une dose seuil au-dessus de laquelle la fonction cellulaire décline

rapidement jusqu'à un minimum. Des différences de marques ou de filtres modifient la position de la courbe en relation de la dose mais non son allure générale. De telles variations reflètent les différences dans la quantité de substances cytotoxiques contenues dans le tabac à l'origine et délivrées lors de la combustion de la cigarette ou retenues par les différentes formes de filtres.

MEYER & Coll. (264) étudièrent l'action dela nicotine sur le métabolisme cellulaire des macrophages alvéolaires des moutons.

Les auteurs purent observer une stimulation de la respiration pour de basses concentrations de nicotine, et une inhibition pour les fortes concentrations :

- environ 30 % de stimulation pour 2 à 3 millimoles/l de nicotine,

et

- environ 50 % d'inhibition pour 40 millimoles/l de nicotine.

Il s'agit donc d'une réaction biphasique.

Une incubation préalable en présence de nicotine annulait la réponse biphasique et seule persistait l'inhibition respiratoire.

La nicotine peut avoir un effet inhibiteur vis-à-vis de l'AT Pase localisée dans la membrane cellulaire des macrophages et qui leur sert d'apport énergétique pour leurs différentes fonctions.

Des expériences in vivo sur l'épuration pulmonaire, donc intéressant le système macrophagique, seront étudiés

dans un prochain chapitre, des mécanismes autres que la phagocytose (activité muco-ciliaire entre autres), entrant en jeu.

GREEN & CAROLIN (142), rappellent que les macrophages jouant un rôle primordial dans le maintien de l'intégrité du tissu pulmonaire contre les facteurs pathogènes, endogènes et de l'environnement, une substance comme la fumée de cigarette, qui empêche ces cellules d'accomplir leurs fonctions naturelles, pourrait par conséquent non seulement intervenir dans la pathogénèse d'une large variété de maladies pulmonaires mais aussi en influencer le cours.

9 - Epuration pulmonaire

L'épuration pulmonaire résulte de divers mécanismes d'élimination, dont les plus importants sont :

1 - l'activité bactéricide des phagocytes,

2 - l'activité bactéricide du mucus,

3 - l'élimination mécanique au moyen du courant mucociliaire,

4 - l'élimination mécanique dans le sang ou la lymphe (328).

On voit donc que, si l'activité macrophagique et/ou l'activité mucociliaire sont déprimées (ce qui se produit lors de l'intoxication tabagique), l'épuration pulmonaire s'en trouvera modifiée.

L'épuration pulmonaire intervenant pour les différentes particules inhalées, et en particulier pour les agents bactériens, on peut en déduire que de tels agents, s'ils se

trouvent au contact de l'arbre bronchique lors d'une phase dépressive, pourront proliférer et déborder les défenses de l'arbre respiratoire.

On pourra ainsi étudier expérimentalement l'action du tabac sur :

1 -l'épuration de diverses substances,

2 - l'épuration bactérienne,

3 - la résistance des animaux d'expérience aux infections (bactériennes ou virales).

1 - Etude de l'épuration pulmonaire de diverses substances

- Substances radioactives

On a pu procéder à des expériences d'inhalation de particules radioactives et étudier leur épuration pulmonaire sous l'effet de la fumée de cigarettes.

A - Effet d'expositions brèves à la fumée

BAIR & DILLEY (26), dans des expériences accomplies sur des rats, après expositions brèves à la fumée, n'observèrent pas de modifications nettes de l'épuration pulmonaire de particules de $^{59}Fe_2O_3$ ou de $^{51}Cr_2O_3$ inhalées.

Ceci contraste avec les résultats suivants :

FERIN & Coll. (127) observent une diminution de l'épuration pulmonaire de SiO_2 chez les rats soumis à une seule exposition de fumée de cigarette.

ALBERT & Coll. (3), chez l'âne, notèrent une diminution de l'épuration de particules radioactives après inhalation de fumée de cigarette.

HOLMA (183), étudie l'effet de la fumée de cigarette chez le lapin sur la phase initiale de l'épuration pulmonaire, de la façon suivante :

- l'animal inhale de la fumée fraîche (1,5 cc) sous narcose (pentobarbital), (emploi de cigarettes à filtre en acétate de cellulose, bouffées de 0,7 seconde de durée, administrées au milieu d'une inspiration - intervalle de 1 minute entre chaque cigarette - 40 bouffées sont prélevées en moyenne à partir d'une cigarette).

Après la 4ème cigarette, l'animal est exposé à un aérosol de polystyrène marqué au Cr^{51}, durant une minute, grâce à un tube trachéal, puis, de nouveau, à la fumée de 2 cigarettes.

L'épuration est ensuite appréciée grâce à un système détectant les particules marquées, placé de chaque côté du thorax des animaux.

L'auteur observe une diminution de l'épuration, par rapport aux animaux témoins. Il en déduit que le fait de fumer seulement quelques cigarettes peut être suffisant pour produire un effet nuisible sur la phase initiale de l'épuration pulmonaire.

B - <u>effet d'expositions prolongées</u>

BAIR & DILLEY (26) exposent des chiens de race beagle à la fumée de cigarette (jusqu'à 18 à 20 cigarettes par

jour, 5 jours par semaine, pendant près d'un an). Les chiens sont ensuite exposés à des aérosols de $^{51}Cr_2 O_3$, puis de $^{59}Fe_2 O_3$. Les auteurs ne remarquent pas d'effet marqué sur l'épuration par rapport aux témoins.

ALBERT & Coll. (1) procédèrent aussi à des études à long terme chez l'âne : administration de la fumée de 30 cigarettes, 2 ou 3 fois par semaine, pendant 6 à 8 mois, au moyen d'un cathéter nasal relié à la machine à fumer.

Les études de la clearance sont faites au moyen d'un aérosol contenant des particules radioactives. L'aérosol est respiré pendant 5 minutes lors de chaque expérience puis la radioactivité thoracique à différents niveaux est mesurée à l'aide de l'appareil décrit par ALBERT & Coll. en 1968. (Les auteurs soulignent l'intérêt d'une étude à long terme, car les maladies pulmonaires associées au tabagisme apparaissent seulement après plusieurs années d'exposition).

Une diminution de l'épuration est notée, surtout au niveau des grosses bronches et de la trachée (comme dans les expériences à court terme effectuées par ces auteurs). Ceci serait dû à l'action de composés gazeux solubles de la fumée puisque le dépôt de particules dans la partie moyenne de la trachée est probablement très petit.

Le retour de l'épuration à la normale se faisait dans des délais variables selon les animaux.

Etude de l'épuration pulmonaire chez l'homme grâce à des substances radioactives (2 - 100, p. 80/1).

La clearance bronchique chez l'homme fut étudiée grâce à l'inhalation d'un aérosol de particules radioactives. La mesure de la radioactivité thoracique est ensuite effectuée par un détecteur.

On peut ainsi étudier les effets à long terme du tabagisme sur le mécanisme mucociliaire de l'homme, comparant l'élimination de particules radioactives chez des hommes ou des femmes fumeurs et non-fumeurs.

En particulier, ALBERT & Coll. (100, p. 100/1) ont entrepris de telles études chez l'homme, étudiant le dépôt des particules dans les poumons et leur épuration lors de l'exposition à la fumée de cigarette. Des anomalies de l'épuration furent observées chez les fumeurs (ainsi que chez des patients porteurs d'une maladie pulmonaire):

1 - un début d'épuration retardé ou un allongement du temps observé entre les deux phases normales de l'épuration.

2 - une épuration de type "spasmodique" avec un blocage trachéal intermittent.

3 - une période d'arrêt de l'épuration prolongée avec mouvement rétrograde des particules de la région hilaire vers les régions pulmonaires les plus distales (1 ou + de ces anomalies furent observées chez 1/3 des fumeurs). Des études sur les effets immédiats de la fumée de cigarette sont prévues.

Une clearance anormale (aérosol de particules marquées à l'or 198) a aussi été remarquée chez les fumeurs par

LOURENCO (100, p. 185).

II - Etude de l'action de la fumée de cigarette sur l'épuration pulmonaire bactérienne

(il est à noter que l'élimination des microorganismes fait aussi intervenir des mécanismes immunologiques) (64).

A - Les animaux peuvent être soumis à un aérosol de bactéries vivantes : Escherichia Coli (328), Staphylococcus aureus (229 - 230 - 231).

L'épuration des bactéries est appréciée, après sacrifice des animaux et prélèvements des poumons, par le nombre de colonies bactériennes s'étant développées à partir des inoculats (nombre de colonies x facteur de dilution = nombre de bactéries). On peut ainsi établir en fonction du temps la courbe d'élimination moyenne des bactéries par les poumons de l'animal normal, puis de l'animal exposé.

B - Les animaux peuvent être soumis à un aérosol de bactéries tuées et marquées d'une substance radioactive (S^{35}) (326).

L'épuration est appréciée par l'impression d'un film exposé aux échantillons de poumons contenant les bactéries radioactives.

La diminution du nombre des bactéries tuées et radioactives est considérée comme représentant l'élimination mécanique au moyen du transport muqueux, tandis que la réduc-

tion des bactéries vivantes témoignerait des mécanismes bactéricides du poumon (328).

Résultats :

LAURENZI & Coll. (229 - 231) utilisent des souris de souche Swiss wistar, soumises à un aérosol de staphylococcus aureus (à virulence relativement basse pour la souris). L'épuration est de 88 % au bout de 4 heures. L'inhalation de fumée de cigarette (à des doses sub-toxiques en ce qui concerne la nicotine) réduit l'épuration à 50 % au bout de 4 heures. Le rapport de rétention relative (nombre de bactéries retenues par les souris exposées/nombre de bactéries retenues par les témoins) était de 4,5.

RYLANDER (328) soumit des cobayes à des aérosols d'Escherichia Coli tués et radioactifs et Escherichia Coli vivants (la combinaison des 2 types d'expérience permettant, on l'a vu, d'apprécier l'épuration due :

1 - au transport muqueux,

2 - aux mécanismes bactéricides (ceci selon RYLANDER (328).

Puis, les animaux furent exposés à la fumée de cigarette, une cigarette par jour pendant une semaine, puis 2 cigarettes 2 fois par jour pendant 2 semaines.

Chez les témoins, 3 heures après l'exposition, il reste dans les poumons 22 % de bactéries vivantes et 74 % de bactéries radioactives.

Chez les animaux exposés, il reste 34 % de bactéries vivantes et 91 % de bactéries radioactives.

L'exposition à la fumée de cigarette semble donc ralentir le flux muqueux et affecter aussi les mécanismes bactéricides.

Ces résultats sont en accord avec ceux de CARSON & Coll. (58) (ralentissement du flux muqueus sur la trachée de chats exposés à la fumée de cigarette), et avec ceux de LAURENZI & Coll. (232) (diminution de l'activité bactéricide).

On a vu, par contre, que certains auteurs n'ont pas observé d'effets sur l'épuration pulmonaire après exposition à la fumée de cigarette (LA BELLE & Coll. (215) en particulier). Pour RYLANDER, ceci serait dû à des différences dans les techniques expérimentales.

III - Action du tabac sur la résistance aux infections pulmonaires

La résistance naturelle à l'infection respiratoire est faite de diverses fonctions. Certaines sont connues, d'autres sont mal définies. Parmi les fonctions connues se trouvent celles de l'appareil mucociliaire du haut appareil respiratoire et du système macrophagique alvéolaire du bas appareil.

L'action combinée de ces deux systèmes représente la principale défense contre l'infection respiratoire.

Ainsi, tout irritant respiratoire ou tout toxique qui peut gêner la capacité fonctionnelle de ces systèmes abais-

serait de façon concomittante la résistance à l'infection respiratoire (353).

La fumée de cigarette est un irritant pulmonaire qui, on l'a montré, inhibe ces activités (142).

SPURGASH & Coll. (353) ont montré l'effet de la fumée de cigarette sur la résistance aux infections pulmonaires.

Des souris albinos Swiss sont soumises à des aérosols bactériens de Klebsiella pneumoniae ou de Diplococcus pneumoniae avant ou après une exposition à la fumée de cigarette. On peut observer une diminution de la résistance à l'infection respiratoire, mise en évidence par une augmentation de la mortalité et une diminution du temps de survie. Cet effet débilitant de la fumée de cigarette sur la résistance à l'infection bactérienne s'est montré être transitoire. Lorsque l'intervalle de temps entre l'exposition à la fumée et à l'aérosol microbien, ou l'inverse, augmentait de 1 à 48 heures, la mortalité diminuait et le temps de survie augmentait jusqu'à des valeurs témoins normales. Cet effet n'était pas influencé par l'augmentation de la durée d'exposition à la fumée de 1 à 3 ou 6 heures.

Une exposition préalable à la fumée de cigarette n'avait pas d'effet significatif sur la résistance des souris à l'infection par le virus influenza. Cependant, l'exposition des souris infectées provoquait une mortalité plus élevée, ce qui suggérait que la fumée de cigarette pouvait aggraver une infection virale respiratoire existante.

B - Altérations lésionnelles

1 - Lésions macroscopiques

Parmi les données macroscopiques relevées après expérimentation, nous retiendrons les données suivantes :

a - Au niveau de la muqueuse trachéo-bronchique :

- nodules et épaississements au niveau de la zone de muqueuse traitée, phénomène observé par bronchoscopie dans le contexte expérimental suivant par ROCKEY & Coll. (318) : chiens de race indifférente recevant des applications répétées de condensat de fumée de cigarette sur la muqueuse bronchique,

- segments bronchiques dilatés et remplis d'un mucus visqueux, gris, terne; ceci fut constaté par GREENBERG & Coll. (143),

- chez des chiens dont la bronche souche droite, suturée, contenait un tampon enduit de goudron de tabac (0,3 ml de goudron), au bout de 2 semaines.

b - Au niveau du parenchyme pulmonaire :

On a pu observer des plages blanches de 5 mm à 3 cm de diamètre sur la surface des poumons (15 - 55).

Ces aspects étaient visibles au niveau de tous les lobes, mais principalement sur les lobes apicaux (55 - 15).

A la coupe, le poumon avait un aspect spongieux dans les zones ainsi modifiées (15 - 55).

Le protocole expérimental avait consisté, chez le chien, en l'inhalation directe et volontaire de fumée de cigarette à travers un tube de trachéotomie.

2 - Lésions microscopiques

2-1 - Au niveau des bronches

a - Epithélium bronchique

1 - Méthode utilisant l'inhalation

LUPU & VELICAN (251) soumettent des cobayes et des lapins à la fumée de cigarette, chaque jour, durant des périodes variables (de 3 à 16 mois). Ils observent des ilôts d'épithélium cubique des bronches terminales, se transformant en épithélium cylindrique pluristatifié non cilié, obturant le passage de l'air, avec présence de bouchons d'exsudat purulent et sanguinolent. Le processus d'inflammation chronique des voies aériennes se généralisait, s'accompagnant de zones de métaplasie épidermoïde ou non différenciée de l'épithélium.

(Ils notèrent aussi une augmentation du diamètre des fibres collagènes de l'adventice et une infiltration diffuse lymphocitaire, histiocytaire et polymorphonucléaire de la sous-muqueuse).

KOMCZYNSKI (205) expose des souris blanches à la fumée de cigarette (à des concentrations variables), à 10 minutes par jour pour des périodes allant jusqu'à 703 jours. Il observe, entre autres modifications, une desquamation, des foyers nécrotiques au niveau de la muqueuse, ainsi qu'une prolifération cellulaire avec apparition de formations atypi-

ques se développant vers la lumière bronchique.

LEUCHTENBERGER & Coll. (238 - 239 - 240 - 241) étudièrent l'effet de l'exposition de souris (souche CF1) en chambre d'inhalation, durant des périodes variables (1 mois à 2 ans, à raison de 1/2 à 8 cigarettes par jour). Ils furent frappés de l'extrême variabilité de la réponse d'une souris à l'autre :

- certaines bronches ne présentent pas de modifications histologiques,

- d'autres montrent une légère prolifération épithéliale, avec augmentation du volume nucléaire,

- parfois, ces lésions prolifératives sont plus marquées, avec hyperplasie atypique des cellules basales,

- une métaplasie épidermoïde fut aussi notée, ainsi que des dysplasies épithéliales qui, pour les auteurs, seraient semblables au carcinome "in situ" de l'homme.

Les auteurs rapportent qu'il n'existerait pas de relation entre la sévérité des lésions bronchiques et la dose ou le temps d'exposition.

Ils comparèrent la fréquence des prolifération atypiques lors de l'inhalation de fumée de cigarette ou de l'exposition au virus influenza : ces lésions étaient moins fréquentes après la fumée de cigarette. Un effet cumulatif était obtenu après exposition à la fumée et au virus.

HOLLAND & Coll. (179) observèrent, au niveau de la partie inférieure de l'arbre trachéo-bronchique de lapins exposés à la fumée (pendant 2 à 5 ans 1/2) :

- une hyperplasie localisée d'abord des cellules basales de la muqueuse,

- puis une hyperplasie généralisée, mais sans cellules atypiques (trois fois plus fréquentes chez les fumeurs que chez les témoins),

- ainsi que des zones de métaplasie épidermoïde (observées chez un animal "fumeur").

ALEXANDROV & RAICHEV (4) exposèrent 180 rats à la fumée de cigarette durant des périodes allant jusqu'à 1 an (2 à 3 cigarettes par jour, exposition à la fumée pendant 5 à 6 secondes et à l'air frais pendant 8 à 10 secondes alternativement).

Ils notèrent :

- chez les rats exposés durant 1 à 2 mois :

des modifications inflammatoires péribronchiques, associées à une stase circulatoire importante, sans modifications épithéliales.

- chez les rats exposés durant 3 à 4 mois :

des lésions inflammatoires plus évidentes : par endroits, une stratification de l'épithélium mais sans métaplasie évidente et avec respect de la membrane basale.

- chez les rats exposés durant 5 mois :

des lésions papillomateuses de la muqueuse ainsi qu'une métaplasie épidermoïde.

- chez les rats exposés durant plus de 6 mois :

des tumeurs auraient été constatées (voir chapitre cancérogénèse).

WYNDER & Coll. (406) exposèrent des souris (souche C 57

à la fumée de cigarette (cigarettes avec ou sans filtre) et à certains composés volatiles de la fumée.

Les animaux sont ensuite sacrifiés à des temps différents. Les auteurs firent les constatations suivantes :

- en l'absence de lésions inflammatoires, l'hyperplasie et la métaplasie sont rarement rencontrées, et la plupart des souris, quelque soit le type de cigarette, ne montrent pas d'anomalies trachéales ou bronchiques,

- plus les phénomènes inflammatoires sont importants, plus l'hyperplasie et la métaplasie sont fréquentes,

- l'hyperplasie et la métaplasie ne progresseraient pas lors d'expositions prolongées,

- chez les animaux non traités, un certain degré d'hyperplasie et de métaplasie serait observé, en présence de lésions inflammatoires, et ceci d'autant plus fréquemment que les animaux sont âgés.

AUERBACH et HAMMOND (14) constatent, chez le chien trachéotomisé, inhalant la fumée :

- la disparition des cellules ciliées en certaines zones de l'épithélium bronchique,

- un épaississement de la couche des cellules basales avec, par endroit, disparition des cellules ciliées remplacées par des cellules pavimenteuses,

- la présence de cellules ayant des noyaux atypiques,

- mais absence de tumeurs.

HORTON & Coll. (16) fit inhaler du formaldéhyde à

des souris (souche $C3_H$).

Il observa :

- une hyperplasie des cellules basales,
- une métaplasie épidermoïde de l'épithélium de la trachée et des grosses bronches.

2 - Autres méthodes

ROCKEY et SPEER (317-318) procédèrent chez le chien à des applications directes et répétées de condensat sur la muqueuse bronchique (grâce à une fénestration trachéale).

Ils observèrent successivement :

- une inflammation : exsudation de leucocytes dans la muqueuse et la sous-muqueuse, avec ou sans disparition des cellules ciliées,

- une hyperplasie : épaississement de la couche basale avec une ciliature moins distincte mais présente, avec augmentation des figures mitotiques dans la couche basale,

- une hyperplasie avec figures atypiques :

c'est-à-dire comme précédemment mais, en plus, présence de grandes cellules avec noyau hypochromatique, à gros nucléoles et ciliature fréquemment absente,

- une métaplasie épidermoïde avec membrane basale intacte,

- une métaplasie épidermoïde avec figures atypiques : dyskératose avec cellules atypiques,

- des lésions précancéreuses,

- (un cancer in situ et un cancer extensif chacun observé chez un chien).

TIPTON et CROCKER (366) appliquent quotidiennement par bronchoscope du condensat de fumée sur la bronche souche gauche de chiens (race pendant 8 jours) (0,05 ml pour les 3 premiers jours, puis 0,1 cc les 5derniers). Les auteurs étudièrent les lésions et leur persistance après arrêt des applications :

3 jours après les dernières applications de condensat, on observe des modifications épithéliales anormales dansune large région :

- métaplasie épidermoïde (prédominant dans la région de la carène et de la bronche souche gauche - peu de zones de métaplasie du côté droit),

- zones de :
  : métaplasie transitionnelle,
  : d'hyperplasie,
  : et d'épithélium normal.

(mais dans les régions les plus proches du point d'application de nombreux foyers montraient une transformation complète en un état de métaplasie épidermoïde, s'étendant parfois dans les canaux des glandes muqueuses et même dans les acini glandulaires)

Au bout de 5 semaines, la métaplasie épidermoïde laissait place à un type d'épithélium dit "transitionnel". L'hyperplasie était plus fréquente au bout de 11 semaines. Enfin, la différenciation épithéliale normale redevenait prédominante au bout de 14 à 18 semaines. Cette étude montre la rapidité avec laquelle la métaplasie a pu être obtenue et aussi sa réversibilité (l'épithélium revenant progressivement,

par étapes, à une différenciation normale). Cette réversibilité des lésions observée chez le chien est en accord avec les constatations faites par AUERBACH & Coll. (20) chez l'homme : le moindre degré de métaplasie chez les ex-fumeurs par rapport aux sujets continuant à fumer (âge égal - même catégorie de fumeurs).

GREENBERG et HALLMAN (143) placent un tampon de 0,5 cm de diamètre, enduit de 0,3 ml de goudron de tabac dans la bronche souche droite chez le chien, par thoracotomie.

Au bout de 2 semaines, on observe une nécrose de l'épithélium bronchique, s'étendant parfois jusqu'à la lamina propria et le cartilage bronchique. Dans certaines régions voisines de la nécrose, existaient une métaplasie épidermoïde, une hyperplasie des cellules basales avec des noyaux augmentés de volume, hyperchromatiques, un épaississement de la membrane basale (4 à 7 couches de cellules). Au bout de 4 semaines, les lésions étaient similaires,; toutefois, l'hyperplasie était moins importante. Après 6 semaines, seules quelques particules de goudron restaient dans la lumière bronchique, et on notait une régénération partielle de l'épithélium. Après 12 mois, seule la nécrose du cartilage bronchique persistait, la régénération complète de l'épithélium s'étant effectuée.

BLACKLOCK (41) inocule 0,2 ml d'un mélange de condensat et d'eucérine, dans le poumon gauche de rats, cobayes et lapins, après thoracotomie.

Il observe :

- une destruction de l'épithélium cilié,
- une prolifération des cellules basales,
- une métaplasie épidermoïde devenant hyperplasique

et prenant l'aspect de lésions cancéreuses (voir chapitre cancer).

KLEIN (203) administre chez le rat anesthésié et trachéotomisé, 0,04 ml d'une solution à 50 % de condensat sans nicotine dans le Tween 60 ou l'acétone, dans la partie périphérique du poumon. Des lésions propres au condensat furent observées en plus des réactions dues au solvant utilisé. Aucun processus tumoral ne fut constaté, mais on notait le développement fréquent de granulomes à corps étrangers, en plus de lésions dues à des infections secondaires.

HERROLD (168) procède à des instillations intra-trachéales chez le hamster syrien doré :

- de condensat de fumée de cigarette dénicotinisée,
- de benzopyrène

en suspension dans le Tween 60.

Avec le condensat, il fut observé une hyperplasie des cellules basales, de proliférations péribronchiolaires, mais sans processus tumoraux.

Le benzopyrène provoque :

- un épaississement marqué de l'épithélium bronchique
- une absence de différenciation cellulaire,
- des variations dans la taille des noyaux cellulaires,
- des lésions polypoïdes de forme et de taille variables :

- certaines étaient papillaires et recouvertes d'un épithélium hyperplasique,
- d'autres avaient un aspect nodulaire et montraient

des zones de kératinisation ainsi qu'une désorganisation cellulaire.

Des tumeurs bénignes et malignes furent obtenues avec le BP en suspension dans le Tween 60 (voir chapitre cancer).

Par contre, aucune modification significative ne fut observée chez les animaux recevant du BP en suspension dans l'huile d'olive. Ceci souligne une fois de plus l'importance du solvant et de l'état physique de la substance dans la cancérogénèse.

PYLEV (306) entre autres substances cancérigènes, administre du BP par inhalation à des rats (BP + solution colloïdale contenant de l'encre de Chine). Des tumeurs furent observées, mais précédées des lésions suivantes :

- masses adénomateuses développées aux dépens de l'épithélium bronchique et alvéolaire,
- adénomes,
- métaplasie épidermoïde,
- papillomes.

LASNITZKI (227) étudie les effets d'une fraction de condensat enrichie en hydrocarbures sur des cultures de poumon foetal humain.

Cette fraction enrichie stimule la division cellulaire (prolifération de l'épithélium bronchique, hyperplasie), provoque une métaplasie épidermoïde, inhibe la croissance du stroma.

Ces modifications ressemblent à celles observées dans le même tissu traité par le benzopyrène (224), sauf pour

la métaplasie épidermoïde, qui n'était pas produite dans les précédentes expériences de l'auteur.

b - Glandes muqueuses

LOPU et VELICAN (251) observent une hypersécrétion de mucus chez les lapins et cobayes inhalant de la fumée de cigarette, avec une tendance à la transformation des cellules ciliées en éléments muco-sécrétants.

PASSEY (298) constate au niveau de l'épithélium respiratoire de rats exposés à la fumée de cigarette : une hyperplasie des glandes muqueuses, une augmentation du nombre des cellules à mucus, une augmentation des sécrétions muqueuses dans la trachée et les bronches.

LEUCHTENBERGER & Coll. (239-241), dans leurs nombreuses études portant sur des souris recevant de la fumée, rapportent des "lésions de bronchite" associées à des modifications graduelles de l'épithélium.

Grâce aux propriétés fluorescentes de certains éléments de la fumée, MELLORS (261) constate :

- une augmentation du nombre des cellules à mucus,
- l'accumulation du matériel fluorescent, tout d'abord dans le mucus, puis dans le cytoplasme apical des cellules bordantes.

HOLLAND & Coll. (179) notent aussi chez le lapin exposé à la fumée de cigarette (pendant 2 à 5 ans 1/2) une prolifération des cellules à mucus des bronches souches et des bronches lobaires.

De même, AUERBACH & Coll. (14) notent, chez le chien trachéotomisé inhalant de la fumée de cigarette :

- une hyperplasie des glandes muqueuses et
- une hypettrophie des cellules à mucus.

2-II - Au niveau du parenchyme

LUPU & VELICAN (251) observent chez des lapins et cobayes soumis à l'inhalation jouranlière de fumée de cigarette (durant des périodes de 3 à 16 mois) :

- la transformation des cellules à aspect lymphocytaire des parois alvéolaires en éléments de type histiocytaire, une individualisation des macrophages;

- l'infiltration de l'interstice conjonctif du poumon par des cellules sanguines, ainsi qu'une hyperplasie et une hypertrophie épaississant les parois alvéolaires, avec développement d'un tissu de granulation,

- un processus de "sclérose" des parois alvéolaires se développant avec une tendance extensive et rétractile.

Par endroits, l'architecture alvéolaire du poumon n'est plus reconnaissable. Il existe des zones d'atélectasie et de dilatation kystique des voies aériennes terminales.

Certains auteurs rapportent la survenue de "lésions emphysémateuses" au cours de leurs expérimentations, sans trop donner de détails histologiques :

- ROCKEY & SPEER observent des "lésions d'emphysème chez des chiens inhalant de la fumée de cigarette,

- HOLLAND & Coll. (179), étudiant les effets à long terme de la fumée chez le lapin, rapportent que "l'emphysème" se développe plus tôt et plus fréquemment, de façon plus "diffuse" chez les fumeurs que chez les témoins,

- LEUCHTENBERGER & Coll. (2[illegible]) constatent chez les souris (souche CF), inhalant de la fumée, au niveau des poumons, des zones d'atelectasies alternant avec des lésions emphysémateuses. Les parois alvéolaires sont épaissies.

- HERNANDEZ & Coll. (167) exposèrent 15 chiens à la fumée de cigarette (30 à 45 mintes, 2 fois par jour, 5 jours par semaine, durant plusieurs mois). L'observation microscopique des poumons mit en évidence des ruptures alvéolaires ainsi que des lésions inflammatoires,

- GEORGADZE & Coll. (138) rapportent aussi des lésions d'emphysème chez des lapins exposés à la fumée de tabac,

- AUERBACH & HAMMOND (15) observent, chez des chiens inhalant la fumée par trachéotomie :

- un épaississement fibreux des septa alvéolaires,
- des régions présentant des ruptures des septa alvéolaires,
- des formations emphysémateuses sous-pleurales,
- pas d'épaississement des parois des petites artères ni des artérioles.

- HAMMOND et AUERBACH (162) dans les mêmes conditions expérimentales, constatent des degrés divers dans l'importance de la fibrose et de l'emphysème, fonction de la quantité fumée et de la présence ou non d'un filtre,

- CAHAN et KIRMAN (55) toujours dans ces conditions et toujours chez le chien, décrivent ainsi les lésions :

  - au niveau des régions blanchâtres observées macroscopiquement, se trouvent des formations irrégulières de tissu conjonctif, entourant des formations aériennes dilatées, de taille variable, à l'intérieur desquelles persistaient encore des restes de septa alvéolaires,

  - dans d'autres régions du parenchyme pulmonaire, existaient un épaississement fibreux des septa et des zones aériennes dilatées, mais à un moindre degré,

  - l'épaississement des parois des petites artères et des artérioles du poumon ne fut pas noté.

Les auteurs concluent à des lésions de fibrose pulmonaire et d'emphysème - les animaux étaient soumis à un maximum de 12 cigarettes par jour, sans filtre. Les temps d'exposition étaient variables : jusqu'à 423 jours.

2-111 - <u>Dépôts observés au niveau du parenchyme</u>

- KOMCZYNSKI (205) rapporte la présence de granules noirs à l'intérieur des histiocytes, chez des souris exposées à la fumée de cigarette,

- MAHRBURG (257) constate aussi, chez la souris, une quantité considérable de pigment dérivé de l'hémoglobine, accumulé dans le tissu interstitiel et dans l'épithélium alvéolaire, au bout de 100 jours d'exposition à la fumée.

- LEUCHTENBERGER & Coll. (241) signalent, dans les poumons de souris CF, inhalant de la fumée en chambre d'exposition, des régions qui sont le siège d'un dépôt intra ou extra-cellulaire de pigment brun intéressant non seulement les phagocytes, mais souvent aussi les cellules épithéliales. L'importance de ces dépôts semblait être proportionnelle à la durée de l'exposition et au nombre de cigarettes "fumées". Après un temps d'arrêt prolongé, la pigmentation disparaissait progressivement.

- AUERBACH & HAMMOND (15) rapportent la présence de granulations de taille variable, contenant des lipides ou un pigment brun dans le parenchyme de leurs chiens "fumeurs".

L'étude du pigment brun pulmonaire chez l'homme (isolement, purification, identification) est actuellement en cours, ainsi que des essais pour tenter de le produire chez l'animal. Le rôle possible du tabagisme est envisagé (100).

C - Tabac et Cancer broncho-pulmonaire

Ainsi que nous l'avons vu, les nombreuses enquêtes épidémiologiques effectuées tant en France qu'à l'étranger, s'accordent pour reconnaître une relation entre l'accroissement du nombre des cancers broncho-pulmonaires et le tabagisme.

Il restait à faire la preuve expérimentale du pouvoir cancérigène du tabac, et à en préciser le mécanisme d'action. S'il s'est avéré relativement facile de produire des cancers cutanés chez diverses espèces animales, après applications locales prolongées de condensat (ROFFO (320), FLORY (132) chez le lapin, WYNDER & Coll. (392 - 393), GUERIN & CUZIN

(148 - 149), chez la souris, la cancérisation de l'arbre respiratoire, par contre, s'est montrée beaucoup plus difficile à réaliser.

Là aussi, diverses méthodes ont été utilisées : inhalation, passive ou active (cette dernière se rapprochant le plus des conditions humaines), introduction de condensat ou de substances cancérigènes contenues dans le tabac, par voie endotrachéale, trnspariétale, par badigeonnage bronchique.

On a vu, en matière d'expérimentation, l'importance de l'espèce animale utilisée.

On doit tout particulièrement en tenir compte pour les études portant sur la carcinogénèse. Outre la structure anatomique de l'appareil respiratoire (voies aériennes supérieures, arbre trachéo-bronchique), la durée de vie, le taux de tumeurs pulmonaires spontanées survenant chez l'animal utilisé, sont d'intérêt capital, ainsi que le type histologique de la tumeur (il s'agit le plus souvent de tumeurs de type glandulaire ou alvéolaire, différant ainsi du cancer bronchique épidermoïde survenant le plus fréquemment chez l'homme.

: - STEWART (313) comparant les tumeurs pulmonaires chez l'homme et chez l'animal de laboratoire, a montré des différences manifestes quant :

- à l'aspect macroscopique,
- à l'allure clinique,
- au sexe des individus atteints,
- à l'évolution de la maladie.

Il a aussi insisté sur les différences histologiques frappantes qui doivent être prises en considération dans toute étude sur le cancer du poumon.

C'est ainsi qu'il faut distinguer des néoplasmes certaines lésions survenant chez de nombreux animaux et pouvant prêter à confusion, surtout chez les rongeurs (métaplasie pavimenteuse kératinisée ou non). Ces lésions, associées à une infection pulmonaire (communément rencontrée chez les rats et les souris, rare chez le hamster), ajoutent aux difficultés de distinguer une lésion non néoplasique d'un cancer.

- KOURILSKI & HAPPERT (1964) ont, en particulier, comparé les cancers broncho-pulmonaires murins provoqués et le cancer humain, sur divers plans (clinique, histologique).

- Des études sont actuellement en cours (301) comparant le cancer broncho-pulmonaire expérimental produit chez le rat par inhalation de radon et les cancers humains.

1 - Essai de cancérisation par la fumée

Les premières expériences d'inhalation de fumée semblent avoir été négatives. En particulier, LORENZ & Coll. (248), exposant des souris (souche A) à la fumée, plusieurs heures chaque jour (durant 28 à 250 jours), n'observèrent aucune augmentation du taux des tumeurs pulmonaires, par rapport aux animaux témoins.

Puis, ESSENBERG (119) exposant des souris (souche A : haute fréquence de tumeurs pulmonaires spontanées), à la fumée de cigarette, en chambre d'inhalation, pendant 14 mois, constate un pourcentage de tumeurs supérieur pour les animaux exposés (91,3 % chez les souris exposées, 59,4 % chez les témoins, différence significative). Des tumeurs, de taille variable, d'origine unie ou multifocale, étaient le plus sou-

vent du type adéno-carcinome-papillaire.

MUHLBOCK (273) travaillant dans des conditions semblables à celles de ESSENBERG, observe aussi une fréquence plus élevée de tumeurs de type épidermoïde, comme chez l'homme.

Toujours chez la souris, KOMCZYNKI (205) observe des proliférations des cellules de l'épithélium cylindrique (exposition à la fumée de cigarette : 10 minutes par jour - durée de l'expérience 703 jours). Chez 1 animal sur 70, une tumeur fut trouvée dans le lobe inférieur du poumon gauche (l'examen microscopique montrait une prolifération des cellules cylindriques). Aucune tumeur pulmonaire ne fut retrouvée chez les 70 témoins.

WYNDER & HOFFMAN (400) rapportent une étude de OTTO (1963) : des souris sont exposées à une inhalation passive indirecte pendant au moins 12 mois. Dans un groupe de 30 souris qui furent exposées à la fumée de 12 cigarettes durant 60 minutes chaque jour pendant environ 24 mois, il observa, en plus de 11 animaux avec des adénomes pulmonaires, une souris porteuse d'un cancer épidermoïde.

Dans un autre groupe de 30 souris exposées à 12 cigarettes par jour, durant 90 minutes, de la même manière, il observe 4 adénomes pulmonaires et un autre cancer épidermoïde du poumon.

Parmi 60 animaux témoins, 3 adénomes pulmonaires furent relevés.

Cependant, WYNDER & HOFFMAN critiquent les résultats. En effet, ces auteurs pensent que certaines lésions observées et décrites par certains comme étant des cancers à cellules

pavimenteuses ne sont, pour eux, que des lésions de métaplasie, l'envahissement des tissus voisins par les cellules cancéreuses et la destruction de l'architecture normale du poumon n'étant pas démontrée. (Ceci rejoint donc les règles de prudence que fait observer STEWART (313) quant à l'interprétation de certaines lésions pulmonaires, du rongeur en particulier).

GUERIN (145) soumet des rats (souche IC et W) à l'inhalation de fumée de cigarette (en chambre d'inhalation, recevant la fumée de 1 à 4 cigarettes par jour, en bouffées de 30 ml, 3/4 d'heure par jour environ, pendant une période prolongée allant jusqu'à 2 ans).

4 cas de néoplasme, du type adénome broncho-alvéolaire, ont été observés (dont 1 cas avec métastases), sur 68 rats (soit 5,8 %), mais il existait un cas d'adénome sur 40 rats témoins (voir tableau).

Aucun phénomène prolifératif important, aucune réaction métaplasique épidermoïde évidente au niveau de la muqueuse trachéo-bronchique ne furent constatés.

Des cancers de la cavité buccale furent observés. Ils seraient expliqués par le fait que les rats se lèchent, badigeonnant ainsi leur cavité buccale avec les fractions lourdes de la fumée s'étant déposées sur leur pelage.

Tableau des résultats (d'après GUERIN 1959 (145).

	Rats	Population Début	Survivants 5 mois 1/2	Tumeurs observées Pulmonaires	Tumeurs observées buccales
Traités	Souche IC Souche W	60(40) 100	68	4	5
Témoins	Souche IC Souche W	20(20) 40	39	1	0

ALEXANDROV & RAICHEV (4) décrivent, chez des rats exposés à la fumée durant au moins 6 mois, des carcinomes de type glandulaire.

Chez le hamster, DONTENWILL & MOHR (104) constatèrent des proliférations papillaires de l'épithélium bronchique (animaux exposés à la fumée de 10 cigarettes par jour, pendant un an).

Il semble donc que ces expériences d'inhalation indirecte, en atmosphère de fumée, n'aient pas réussi à reproduire des cancers pulmonaires semblables à ceux de l'homme.

Cependant, AUERBACH et ses Coll. (14 - 15 - 16) ont entrepris des études chez le chien inhalant la fumée par trachéotomie (inhalation directe et active). Ces auteurs auraient obtenu, récemment (16), des tumeurs pulmonaires dont certaines seraient des carcinomes bronchiques épidermoïdes.

Enfin, si, dans la majorité des cas, on n'a pu reproduire ce type de tumeurs, des lésions histologiques ont été constatées, qui seraient analogues à celles rencontrées chez les fumeurs humains et décrites en particulier par CHANG (61),

AUERBACH & Coll. (13-17-18-19).

La métaplasie mapighienne, en particulier, est fréquemment décrite. Ceci est de grande importance si l'on considère cette modification comme une étape vers le développement d'une lésion maligne de l'arbre trachéobronchique. Ces études expérimentales ont été rapportées au chapitre histologie. Il convient, malgré tout, de rappeler certains travaux :

LEUCHTENBERGER & Coll. (239) observent, chez la souris, une hyperplasie des cellules basales, des lésions atypiques prolifératives, une dysplasie et une métaplasie épidermoïde qui, selon ces auteurs, serait semblable au carcinome in situ de l'homme.

Chez le lapin HOLLAND (179), constate : une hyperplasie localisée d'abord, puis généralisée, des cellules basales, puis des zones de métaplasie épidermoïde.

AUERBACH & Coll. (14) chez le chien, observe : un épaississement de la couche basale avec, par endroit, disparition des cellules ciliées et la présence de cellules à noyau atypique.

On constate ainsi que la production expérimentale du cancer pulmonaire par inhalation de fumée s'est heurtée et se heurte à de nombreuses difficultés :

- reproduction aussi fidèle que possible de la façon de fumer de l'homme. Or, il est, jusqu'à présent, pratiquement impossible de faire fumer un animal (à l'exception de certains primates singes-) (292). Toutefois, et selon la majorité des auteurs, les expériences de AUERBACH & Coll. (16) portant sur le chien trachéotomisé inhalant volontairement la fumée, sem-

blent d'intérêt primordial. Cette méthode pourrait ainsi remplacer la classique exposition d'un ou de plusieurs animaux à la fumée de cigarette en chambre d'inhalation, qui ne ressemble guère au fumeur aspirant ses bouffées de cigarettes,

- le temps d'exposition à la fumée. Chez l'homme, il s'étend sur une assez grande partie de la vie : on compte en moyenne une vingtaine d'années, d'où la nécessité de calculer pour l'animal l'équivalent d'une telle période et ainsi de tenir compte de la durée de vie de l'espèce.

- la nécessité d'administrer, du point de vue quantitatif, des doses correspondant à celles de l'homme (mais le problème de la toxicité se trouve alors souvent posé).

2 - Action cancérigène du condensat

Le condensat de fumée de cigarette, appliqué sur l'épiderme de souris et de lapin, s'est révélé être un carcinogène complet (400-403).

WYNDER & HOFFMAN (400) insistèrent sur la nécessité de préciser la méthodologie, de connaître les différentes variables susceptibles d'influer sur cet effet cancérigène. Ces précisions seront naturellement aussi valables dans les tentatives de cancérisation de l'appareil respiratoire.

C'est ainsi qu'il faut tenir compte du tabac lui-même : type de tabac - pays d'origine - solvant utilisé (dont le rôle et l'importance seront rappelés lors de l'étude de la cancérisation par les composants de la fumée).

Il est aussi nécessaire de préciser le mode d'administration du condensat, la quantité utilisée, la fréquence et la durée de l'application, la durée de l'expérimentation.

On a pu utiliser non seulement le goudron entier, mais aussi les diverses fractions qui le composent (schémas). Ces fractions furent en particulier testées du point de vue de leur activité cancérigène, sur l'épiderme de souris (408-396-397-400).

Certains tests rapides de détermination du pouvoir cancérigène ont été mis au point. Citons la méthode basée sur la dégénérescence des glandes sébacées de l'épiderme de souris, test utilisé fréquemment depuis 1954 (359-360-31) et, en particulier, par les équipes de chercheurs français (100, p 24/5).

L'introduction intratrachéale de condensat ne semble pas capable de provoquer de processus malins, ainsi qu'en témoignent les expériences de KIGDON (314), chez le canard, de DELLA PORTA & Coll. (97), chez le hamster et de KLEIN (203), chez le rat.

DELLA PORTA administra le goudron en solution colloïdale : 200 ug dans 0,05 ml d'une suspension colloïdale de gélatine, deux fois par semaine; Aucun cancer pulmonaire ne fut observé, ni même de métaplasie pavimenteuse, alors que des lésions atypiques, une métaplasie, des adénocarcinomes de la trachée et des bronches furent produits par le diméthylbenzanthracène (DMBA), dans des conditions similaires.

KLEIN en 1962 (203) introduit, chez le rat trachéotomisé, sous anesthésie générale, 0,04 ml d'une solution sans nicotine de condensat dans le Tween 60 ou l'acétone, dans la partie périphérique des poumons, au moyen d'un cathéter en polyvinyl (environ 20 mg de condensat par animal).

Le condensat produirait des lésions caractéristiques, en plus des réactions spécifiques liées au solvant. Mais aucun

cancer pulmonaire ne fut observé chez aucun des animaux traités (ayant survécu de 1 à 10,5 mois), ni chez les témoins. Des réactions de type granulome à corps étranger auraient été notées avec une grande fréquence.

Le goudron peut aussi être appliqué, badigeonné au niveau de l'arbre trachéo-bronchique :

ROCKEY & Coll. (316-317-318) procédèrent chez le chien à des applications directes et répétées de goudron de tabac sur la paroi interne de la bronche souche gauche, au moyen d'une fenêtre trachéale (0,1 à 0,25 cc, 3 à 5 fois par semaine, pendant des temps variables : de 2 à 1 203 jours). Les animaux témoins étaient soumis à des irritations mécaniques de la bronche souche gauche.

Ils constatèrent :

- une hyperplasie : 43 % des cas
- une hyperplasie + des figures atypiques : 5 %
- une métaplasie malpighienne : 95 %
- une métaplasie malpighienne + des figures atypiques 83 %
- des modifications dites pré-cancéreuses : 24 %
- un carcinome in situ : 2,4 %
- un carcinome envahissant : 1,2 %.

Les modifications pré-cancéreuses furent produites après au moins 4, 5, 15 et 19 applications. Dans un cas, 53 applications conduisirent au carcinome in situ et, dans un autre cas, 5 applications en 11 jours auraient provoqué un carcinome bronchique envahissant.

BLACKLOCK, en 1957 (40) injecta dans le poumon de rat blanc C.B., après trachéotomie, du goudron de tabac en

suspension dans l'huile d'olive (en quantité correspondant à 4 cigarettes). Aucun animal ne développa de tumeur. (Par contre, sur 8 rats, 2 présentèrent des tumeurs pulmonaires (1 carcinome et 1 sarcome), lorsque à la suspension injectée, on avait ajouté 0,01 mg de bacille tuberculeux tué). En 1961, reprenant ce principe d'administration chez le rat, le cobaye et le lapin, BLACKLOCK (41) injecta des doses plus élevées (0,2 ml d'un mélange de condensat et d'eucérine, correspondant à environ 40 cigarettes). Des tumeurs malignes furent obtenues chez les rats (1 carcinome anaplasique dans 6 cas, 1 sarcome dans 2 cas) (voir tableau). Des lésions histologiques à type de prolifération des cellules basales, d'hyperplasie, de métaplasie malpighienne furent observées chez les rats, les lapins et les cobayes. Un lapin présenta un carcinome in situ.

Type d'expérience	Nombre de rats	Tumeurs malignes
a) condensat de cigarette dans le poumon gauche	72	6 carcinomes 2 sarcomes 8 (soit 11,1 %)
b) eucérine dans le poumon gauche	44	1 sarcome (soit 2,3 %)
c) tumeurs spontanées du poumon	275	1 carcinome 3 sarcomes 4 (soit 1,4 %)

d'après BLACKLOCK (41)

Incidences des tumeurs pulmonaires malignes chez le rat :

a) après inoculation de condensat de cigarette,

ou b) d'eucérine,

et c) tumeurs spontanées.

En 1964, KOURILSKI & HAPPERT (209) injectèrent chez des souris de souche A, C3H, SWR, du goudron de cigarette, par voie intra-thoracique directe. La quantité totale injectée à chaque animal représentait la quantité de goudron obtenue par la combustion de 1/2 cigarette de tabac brun. Tous les 3 jours, on injectait 0,2 ml de la solution au 1/10 pendant 21 semaines.

A partir de la 21ème semaine, plus de 50 % des animaux traités présentaient des signes de cancer broncho-pulmonaire. L'augmentation de la fréquence des tumeurs malignes spontanées, sous l'influence du goudron, a été de 21,6 % à 66,8 % suivant les souches.

Il est à noter que, dans certaines expériences de cancérisation cutanée ou sous-cutanée par le goudron, on a pu voir apparaître des tumeurs pulmonaires. Ainsi, GUERIN & CUZIN (148-149) rapportent l'apparition de tumeurs cutanées avec métastases pulmonaires chez la souris, après badigeonnage de l'épiderme avec du goudron de tabac. TAKAYAMA (363), après injection sous-cutanée de goudron de cigarette chez la souris, constate entre autres lésions, des adénomes pulmonaires multiples, chez certains des animaux traités.

En fait, dans de telles expériences, le plus souvent seul le cancer cutané local apparait.

Le condensat a aussi été testé sur des cultures de cellules. Dans certains cas, MAY & BOUCHARD (260), DI PAOLO (99) : il s'est agi de fragments pulmonaires de souriceaux traités par le condensat ou une de ses fractions, greffés chez l'animal adulte de même race et de même sexe. Les frag-

ments pulmonaires montraient des anomalies :

- anomalie de mitoses constatées par MAY & BOUCHARD (260).

- effet carcinogène : constaté par DI PAOLO, chez 25 greffes sur 90. 63 % de ces néoplasmes étaient dus à la fraction heptane. Une seule des tumeurs observées fut considérée comme un carcinome bronchique possible. Elle survint sur un fragment pulmonaire traité par la fraction heptane.

WYNDER & HOFFMAN rapportent les expériences de HOU & WILLIS (187) : des préparations de condensat et de ses fractions, incorporées dans des gouttelettes de cholestérol (dans un rapport cholestérol/goudron de 1/1 à 2/1) furent placées, avec des homogreffes de poumon embryonnaire, chez des rats (en sous-cutané et en intramusculaire). Des rats témoins reçurent des gouttelettes de cholestérol et méthylcholanthrène (MC) (rapport MC/cholesté : 3/1). 4 des 56 rats recevant du MC développèrent des tumeurs à cellules pavimenteuses hautement différenciées. Aucun des 644 rats implantés avec les diverses fractions du condensat ne développe de cancer. Pour WYNDER & HOFFMAN (400), la concentration de la substance cancérigène du tabac n'est pas du même ordre que celle du MC testé par les auteurs. Ceci illustre les difficultés de technique et de dosage employés : les cancérigènes du tabac pourraient produire des tumeurs dans ce système si des doses adéquates pouvaient être appliquées.

RUSCHNER (213) signale l'intérêt de l'utilisation de système in vitro, cultures de cellules, afin d'éliminer l'influence de facteurs hormonaux ou immunologiques, permet-

tant ainsi d'étudier plus clairement l'action de la substance cancérigène sur la cellule. Mais, dans ce genre d'expérimentation, se pose le problème de la séparation des effets toxique et cancérigène, les cellules en culture étant particulièrement sensibles. LASNITZKI (1969 - 227) utilise des cultures de poumon foetal humain soumises à l'action de différentes fractions du condensat (fraction neutre-fraction neutre sans nicotine, avec ou sans hydrocarbures - fraction neutre enrichie en hydrocarbures). Avec toutes les fractions, des néo-bronchioles se formèrent, l'épithélium bordant devint hyperplasique, conduisant à une conclusion partielle ou complète de la lumière. L'épithélium hyperplasique montrait 3 types histologiques différents, dépendant des fractions utilisées :

- hyperplasie des cellules basales après la fraction neutre totale Denicotea et après la fraction avec hydrocarbures.

- perte de l'épithélium sécrétoire, modifications nucléaires avec la fraction neutre.

- métaplasie épidermoïde après la fraction sans hydrocarbures.

Ainsi, les effets observés peuvent ne pas être dus aux hydrocarbures seuls puisque la fraction qui n'en contient pas produit aussi une hyperplasie (225) : d'autres substances jouent probablement un rôle pour stimuler la croissance de l'épithélium bronchique.

Cependant, dans les expériences de cet auteur, effectuées en 1968, la fraction enrichie en hydrocarbures semble

la plus efficace, suggérant que les hydrocarbures ont un rôle essentiel dans l'induction du cancer broncho-pulmonaire.

LASNITZKI en 1964, (226), traita de même des explants d'épithélium trachéal de souris avec des fractions de condensat.

La fraction contenant les hydrocarbures provoquait :

- une augmentation du nombre des mitoses,
- une hyperplasie de la couche basale,
- une augmentation de l'activité sécrétoire.

Après 14 jours de traitement, le tissu secréteur épithélial était remplacé par des cellules non glandulaires, tandis que le tissu témoin restait normal.

3 - Action cancérigène ou co-cancérogène des composants de la fumée

Une fois démontrée l'activité cancérigène du goudron de tabac, il s'est agi d'identifier les agents causals (398-400-197-280). Pour cela, le goudron fut fractionné et les fractions testées sur l'épiderme de souris, ainsi que nous l'avons vu (408-396-397-400-403).

Les chercheurs ont poussé leurs analyses jusqu'à isoler les divers éléments de la fumée et tenter de prouver leur rôle dans la cancérogénèse.

Parmi ces substances, figurent en particulier les hydrocarbures aromatiques polycycliques dont WYNDER & HOFFMAN ont établi la liste (tableau).

De ces hydrocarbures, le 3-4 banzopyrène est celui

qui a été le plus fréquemment rapporté par les différents auteurs (71-281-228-407).

Expérimentalement, on se heurte là aussi à divers problèmes, en particulier la nécessité d'atteindre des doses suffisantes de cancérigènes et de prolonger leur contact avec le lieu d'inoculation, pendant un temps suffisamment long. Cette fixation insuffisante de la substance expliquerait l'échec de certains auteurs à produire des tumeurs pulmonaires (344).

Pour remédier à cela, SHABAD (344) utilise une suspension colloïdale d'encre de Chine, ce qui, non seulement marque le lieu d'introduction, mais aussi, adsorbe et retient, au moins pour une certaine période, l'hydrocarbure cancérigène.

SAFFIOTTI & Coll. (330) ont utilisé l'oxyde de fer colloïdal comme support, chez le hamster. Là aussi, ces particules inertes comportant le cancérigène adsorbé ont un temps d'action prolongé dans le poumon.

Mais l'hématite a été suspectée de jouer un rôle dans la carcinogénèse de l'homme, ainsi que l'a montré la haute fréquence de cancer pulmonaire chez les travailleurs exposés à cette substance. En effet, certaines de ces substances, utilisées comme support, pourraient, par elles-mêmes, avoir un rôle cancérigène. (Ceci pose aussi le problème du tabac en tant que co-facteur cancérigène).

De nombreuses expériences utilisant le benzopyrène furent tentées chez l'animal.

LACKLOCK (40) injecte directement dans le poumon du rat, après thoracotomie, 60 mg de 3-4 benzopyrène dissout dans 3 ml d'huile d'olive. 5 animaux sur 6 présentent un sarcome du

poumon. Les tumeurs étaient de taille variable, blanches avec des régions de nécrose et souvent des hémorragies. Certaines envahissaient un lobe, d'autres le poumon entier et toutes avaient atteint la plèvre pariétale et le médiastin. Au point de vue microscopique, les tumeurs étaient composées, pour la plupart, de cellules fusiformes, parfois anaplasiques, dont beaucoup montraient des mitoses. Toutes les tumeurs étaient assez vascularisées. Aucune métastase ne fut notée.

HERROLD (168) procède à des installations intra-trachéales, chez le hamster syrien, de benzopyrène en suspension dans le Tween 60 (0,05 ml approximativement de la substance), pendant des périodes allant jusqu'à 4 à 6 mois. On a pu observer des tumeurs bénignes et malignes de la trachée, des bronches et des bronchioles. Souvent, des tumeurs multiples étaient présentes chez le même animal. Les tumeurs bénignes consistaient en des papillomes à cellules pavimenteuses. Les tumeurs malignes étaient des carcinomes. Elles envahissaient de larges zones de parenchyme pulmonaire et s'étendaient dans le tissu adipeux du hile du poumon. Des cellules malignes infiltraient les parois de vaisseaux sanguins, mais on n'observa pas de nodules métastatiques à distance, ni macro, ni microscopiquement

Des modifications atypiques furent aussi observées dans des groupes recevant du benzopyrène en suspension dans l'eau distillée. Il s'agissait de lésions non envahissantes.

Aucune modification significative ne fut notée chez les animaux recevant des instillations de benzopyrène en suspension dans l'huile d'olive (contrairement aux expériences de BLACKLOCK, mais il s'agissait de sarcomes, et les conditions

d'administration étaient différentes).

HERROLD en conclut que le solvant et l'état physique du cancérigène sont tous les deux des facteurs importants dans la cancérogénèse.

PYLOV (306) introduisit du benzopyrène chez des rats Wistar et de souche mélangée, par introduction (le benzopyrène était dissout dans un colloïde protéinique contenant de l'encre de Chine). On put observer des modifications morphologiques dans les poumons : masses adénomateuses se développant aux dépens de l'épithélium bronchique et alvéolaire - adénomes - zones d'épithélium malpighien sur plusieurs couches - papillomes. Un cancer apparut chez 7 animaux sur 12.

SHABAD (344) rapporta les expériences de RYAZANOV & Coll. : ces auteurs réussirent à obtenir un cancer pulmonaire microcellulaire chez un rat, 15 mois et demi après l'introduction intratrachéale de 100 mg de 3-4 benzopyrène.

Mais il semble, pour SHABAD, qu'il s'agisse plutôt d'un lymphosarcome ou d'un réticulosarcome du tissu lymphatique péribronchique que d'un carcinome bronchogénique.

SHABAD (344) procéda à l'introduction de 3-4 benzopyrène dans l'encre de Chine, par intubation chez des rats. Il apparut des cancers pulmonaires, parfois de taille considérable localisés surtout dans les lobes moyens et inférieurs du poumon. Par certains points, ces tumeurs ressemblaient au cancer primitif du poumon de l'homme :

- origine bronchogénique
  prédominance du cancer à cellules pavimenteuses sur l'adénocarcinome.

Par contre, certaines différences étaient notées :

- kératose, particulièrement prononcée dans les cancers expérimentaux,
- pas de forme microcellulaire.

Dans les cas d'adénocarcinomes et de cancers à cellules pavimenteuses, des métastases étaient trouvées dans les ganglions lymphatiques du médiastin et du cou.

SAFFIOTTI & Coll. (330) instillèrent par voie intra-trachéale du benzopyrène et de l'hématite (3 mg de benzopyrène, 3 mg d'hématite), une fois par semaine pendant 15 semaines, chez le hamster syrien doré. Ils obtinrent des lésions allant des modifications hyperplasiques de la muqueuse trachéo-bronchique jusqu'aux tumeurs :

- hyperplasie de l'épithélium bronchique ou trachéal à des degrés variables, avec parfois des figures atypiques,
- métaplasie pavimenteuse,
- carcinomes bronchiques : c'est le type de tumeur le plus souvent induit ; leur taille allait des lésions microscopiques aux masses envahissant plus d'un lobe.

Elles se trouvaient plus fréquemment dans les parties proximales de l'arbre bronchique : bronches souches et premières divisions.

Trois types microscopiques étaient observés, qui sont d'ailleurs connus en pathologie humaine :

1 - carcinome épidermoïde : plus ou moins différencié,

avec parfois des zones anaplasiques.

2 - carcinomes anaplasiques : apparaissant plus tardivement que la variété précédente; se présentant ici sous forme de carcinome à grandes cellules; une grande variété dans leur aspect était notée; le type spino-cellulaire était trouvé surtout dans les carcinomes se développant dans la lumière trachéo-bronchique; parfois, certaines régions étaient différenciées : type épidermoïde ou, plus rarement, type adénocarcinome, voire les deux à la fois.

3 - adénocarcinomes : les moins fréquents; se montraient formés d'acini et de tubules, à divers degrés de différenciation; certains présentaient une sécrétion muqueuse.

Des adénomes bronchiques furent notés dans certains cas. Les lésions bronchiolaires adénomateuses étaient observées très tôt (7ème semaine de traitement). Les tumeurs de la trachée et du larynx étaient de type malpighien.

Aucune métastase de ces tumeurs de l'appareil respiratoire ne fut observée.

SAFFIOTTI & Coll. remarquent que les modifications hyperplasiques surviennent très précocement, que les carcinomes épidermoïdes et les carcinomes anaplasiques sont les types les plus fréquents (comme chez l'homme), bien que des adénocarcinomes aient aussi induits. D'après ces auteurs, des lésions péribronchiolaires sont plus difficiles à interpréter : elles auraient été vues chez les animaux témoins et décrites dans

différentes conditions pathologiques : inflammation, fibrose chronique, et après exposition de souris à des virus Influenza. Cependant, leur incidence serait augmentée et leur apparition accélérée par les carcinogènes. Elles ont été clairement décrites par HERROLD & DUNHAMM (J. Nat. Cancer Inst. 1962) dans leurs expériences sur les hamsters, avec du benzopyrène en solution dans le Tween; elles ont aussi été rapportées par SHABAD, chez les rats (169).

CROCKER (100, p. 174) observa une prolifération de cellules anormalement différenciées et des zones de métaplasie pavimenteuse, dans des cultures d'organes (trachées de hamsters, chiens, singes), exposés à du condensat et du benzopyrène.

Cependant, malgré les résultats expérimentaux, les auteurs s'accordent en général pour considérer que le benzopyrène ne peut rendre compte par lui-même de la totalité de l'action cancérigène du tabac, sa concentration y étant trop faible (2,2 microgr. pour 100 cigarettes, d'après BONNET & NEUKOMM en 1959 - (45)).

De plus, il est à remarquer que l'appareil respiratoire des sujets vivant dans une région urbaine est beaucoup plus exposé au benzopyrène et aux hydrocarbures cancérigènes provenant de la pollution atmosphérique qu'à ceux provenant de la fumée de tabac.

Des essais de cancérisation des voies respiratoires ont été effectuées par HORTON & Coll. (186), chez la souris de souche C_3H (faible tendance aux adénomes pulmonaires) : l'inhalation de formaldéhyde par la souris pendant plus de 64 semaines ne réussit pas à produire des carcinomes à cellules pavimenteuses. Des modifications histologiques de la trachée et des grosses

bronches furent, par contre, observées :

- hyperplasie des cellules basales,
- métaplasie atypique.

Le problème des nitrosamines fut particulièrement étudié. Bien que certains auteurs aient affirmé leur présence dans le tabac et la fumée de cigarettes (342 - 211), la plupart des études n'ont pas réussi à les identifier dans la fumée fraîche de tabac(193 - 284). Il semble plus probable que leur formation survienne lors de la préparation du condensat (400) ou lorsque la fumée "vieillit" (401).

Toutefois, plusieurs de ces substances étant de puissants cancérigènes pour l'animal (256), et la fumée de tabac contenant leurs précurseurs (amines secondaires et oxydes nitreux (352 - 355), celle-ci semble devoir être considérée comme une source potentielle de N-nitrosamines (373). Il a même avancé que les oxydes nitreux présents dans la fumée de cigarette, lorsqu'ils sont inhalés, pourraient réagir avec des groupes d'amines secondaires, ou avec des amides secondaires, des protéines du tissu pulmonaire pour former des N-nitrosamines ou amides cancérigènes, encore qu'aucune donnée ni humaine, ni expérimentale n'ait vérifié une telle supposition (401).

BOYLAND & Coll. (47) ont préparé de la nitrosonornicotamine et l'ont injectée à des souris de souche CB (Chester Beatty), une fois par semaine, en intrapéritonéal : 0,1 ml à 2 % de nitrosonornicotamine dissoute dans de l'huile d'arachide, pendant 41 semaines. A partir du 8ème mois, de multiples adénomes pulmonaires furent observés, dont certains montraient une invasion locale du poumon et des bronches, mais

sans métastases.

De nombreuses substances radioactives furent mises en évidence dans le tabac et sa fumée :

- radium
- thorium
- plomb 210
- polonium 210
- carbone 14
- potassium 40.

Si l'on a longtemps discuté du rôle du polonium 210, il semble à présent de moins en moins vraisemblable que cet élément puisse être responsable du cancer broncho-pulmonaire du fumeur (60). Les quantités de PO 210 contenues dans le tabac varient largement selon les auteurs. De plus, seule une partie (30 à 50%) serait récupérée dans la fumée aspirée. Pourtant, de nombreuses analyses des tissus humains auraient montré que poumons, sang et foie des fumeurs contiennent des quantités de PO 210 supérieures aux organes coorrespondants des non-fumeurs. (310 - 128 - 184 - 185).

RAJEWSKY & Coll. (310) estiment la dose quotidienne de PO 210 inhalée pour un fumeur de 20 cigarettes par jour à 2 picocuries environ. Des études sur un matériel d'autopsie indiquèrent une exposition annuelle, pour les cellules basales des bronches segmentaires et terminales, de 41 mrem et 79 mrem, respectivement. Les valeurs sont minimes, si on les compare aux 1 à 2 rem par an, provenant de la désintégration naturelle du radium et du thorium dans l'air (401 - 191).

Au point de vue expérimental, WYNDER & HOFFMANN (402) rapportent les études de KELLY & HOMBURGER : l'activité cancérigène du goudron de tabac pour l'épiderme de souris était inchangée, même si l'on augmentait de 100 fois la quantité de

polonium 210 contenue normalement dans le goudron. Il paraît maintenant improbable que cet élément, dans les quantités où il se trouve dans la fumée de cigarette, joue un rôle dans la cinogénèse tabagique.

Cependant, si un doute subsiste à l'égard de cet élément (309), il est intéressant de noter que des filtres spécifiques seraient capables de retenir 90 % du PO 210 présent dans le courant primaire (50). De plus, les engrais au phosphate seraient, aux Etats-Unis du moins, une des sources principales du PO 210 contenu dansle tabac (370-b). L'usage d'engrais débarrassés de cette substance pourrait ainsi diminuer le contenu de ce radio-élément dans le tabac (401).

Le rôle du potassium radio-actif contenu dans le tabac parait très discutable (125) : les quantités absorbées par le fumeur sont infimes et rapidement éliminées par le poumon. Si du strontium 90 fut trouvé dans le tabac canadien, il ne semble pas que les radiations émises par cet élement puissent atteindre le poumon. La température du cône de combustion de la cigarette n'est pas suffisante pour volatiliser cet élément.

De même que se posa le problème d'une éventuelle action cancérigène du C14 trouvé en 1957 par CHOJNOWSKI & Coll. (63) dans le goudron, le CO_2 et le CO provenant de la fumée de cigarette. HOLLAND & Coll. (179 - 180) considérent que l'arsenic est une impureté dangereuse dans le tabac et qu'elle serait peut-être responsable du développement du cancer pulmonaire. Des études effectuées pour connaître le contenu en AS de la muqueuse et de la sous-muqueuse de la partie inférieure de la trachée et des bronches souches chez des fumeurs et des non fumeurs, chez des fumeurs et des sujets porteurs d'un

cancer pulmonaire, auraient montré des concentrations d'As supérieures dans la muqueuse bronchique des sujets avec un cancer du poumon, soit 15 sujets, et 14 de ces 15 patients cancéreux étaient fumeurs.

En fait, de nombreuses études ont établi une relation entre l'utilisation aux Etats-Unis d'insecticides arseniés (principalement de 1930 à 1946), et la présence d'arsenic dans le tabac. Or, depuis 1950, la quantité de cette substance semble avoir diminué, les insecticides arseniés ayant été progressivement abandonnés.

De plus, lors de la combustion de la cigarette, il semble qu'une faible partie soit inhalée (une petite quantité seulement étant volatilisée).

Enfin, certains pays où le tabac contient peu ou pas d'arsenic ont un taux élevé de cancer pulmonaire (Turquie, par exemple).

Du point de vue expérimental, ESSENBERG & Coll. (123) exposèrent 36 souris A/JAX à la fumée de cigarette 12 fois par jour, 6 jours par semaine, pendant un an. Le tabac utilisé comportait une faible quantité de nicotine et 0,55 mg de trioxyde d'arsenic était ajouté à chaque cigarette. La production de tumeur pulmonaire était de 39 % chez les témoins, et de 62 % chez les souris testées. Or, on obtenait 64 % de tumeurs avec ce même tabac sans addition d'AS dans l'étude précédente, faite par ESSENBERG & Coll. en 1955 (122).

Tout ceci, et malgré les travaux de HOLLAND & Coll., conduit à éliminer l'arsenic en tant que facteur primordial dans la génèse du cancer pulmonaire des fumeurs. Il n'est toutefois

pas exclu que cette substance puisse jouer un rôle en tant que co-carcinogène (52), d'autant plus que cet élément ferait partie de la liste sans cesse croissante des polluants atmosphériques. Enfin, il n'est pas exclu que d'autres sortes d'insecticides puissent être impliquées.

Certains auteurs ont suggéré que les charges électro-statiques de la fumée pourraient avoir un rôle cancérigène (9). D'autres avancent que le CO, le HCN, le sulfure pourraient être mis en cause (357 - 246).

Des composés métalliques sont aussi présents dans la la fumée : le nickel, en particulier, à l'état de trace. WYNDER & HOFFMANN posent la question de savoir si ce métal se trouve dans la fumée sous forme de carbonyl de nickel, celui-ci se montrant capable d'induire des tumeurs pulmonaires chez l'animal, à de très faibles concentrations. Cependant, il semble que le carbonyl de nickel soit trop instable à la chaleur pour résister lors de la combustion du tabac (401).

Enfin, il ne faut pas négliger le rôle des additifs : humectants, colorants, substances donnant du goût. Ils doivent être pris en considération car, outre leur action propre, ils pourraient être les précurseurs d'autres substances.

La contamination par des micro organismes est également importante à considérer : contamination par des virus, à propos desquels s'est posé le problème de la décomposition du RNA viral, lors de la combustion de la cigarette, contamination par des éléments fungiques, en particulier ceux de la classe des Basidiomycètes.

Le rôle du papier à cigarettes a été soulevé pour

expliquer la différence entre la fréquence des cancers bronchiques chez les fumeurs de pipes et les fumeurs de cigarettes.

ESSENBERG (121) rapporte que la fumée provenant du papier a peu ou n'a pas d'effet sur la production des tumeurs pulmonaires chez la souris (8 carcinomes et 5 adénomes chez les animaux expérimentaux, contre 5 carcinomes et 6 adénomes chez les témoins).

Selon COOPER & GILBERT & LINDSEY (70), le papier contiendrait des hydrocarbures en bien moindre quantité que celle trouvée dans la fumée.

En fait, la moindre fréquence des cancers pulmonaires chez les fumeurs de pipes ou de cigares serait plutôt une question d'inhalation (moins profonde chez les fumeurs de pipe et de cigares).

D'autres composants ont été impliqués dans la carcinogénèse. Il semble qu'il n'y ait pas une, mais des substances en cause, capables d'agir entre elles de façon synergique. Ce qui amène à envisager le mécanisme d'action.

4 - Mécanisme d'action

Selon WYNDER & HOFFMANN (401), la fumée de tabac contiendrait des initiateurs et des promoteurs. Les initiateurs seraient, pour la plupart, dans la carcinogénèse tabagique, les hydrocarbures aromatiques. Ils affectent l'appareil génétique de la cellule, conduisant à une cellule tumorale "dormante". Les promoteurs sont inactifs par eux-mêmes, et leurs effets sont réversibles. Ils peuvent, cependant, stimuler la cellule initiée, contribuant ainsi à l'induction et à la proli-

fération de la tumeur. Leur mode d'action n'est pas bien connu. Certains d'entre eux semblent affecter la respiration mitochondriale (401). WYNDER & HOFFMANN (403) décrivent des composants "accélérateurs", sans activité cancérigène, mais qui seraient capables d'augmenter l'activité de cancérigènes complets ou des initiateurs tumoraux. 3 constituants de la sous-fraction B_1 se seraient révélés "accélérateurs" : le trans-4,4 = dichlorostilbene (=DCS : produit de pyrolyse de certains insecticides), le 1 - méthylindole et le 9 - méthylcarbazole (403).

Les initiateurs ont été identifiés seulement dans la fraction neutre du goudron et dans ses sous-fractions B et B_1 (schéma) (401). (B_1 aurait d'ailleurs été séparé en de nombreuses autres fractions). B_1 agirait comme un carcinogène complet et aurait une puissante action initiatrice.

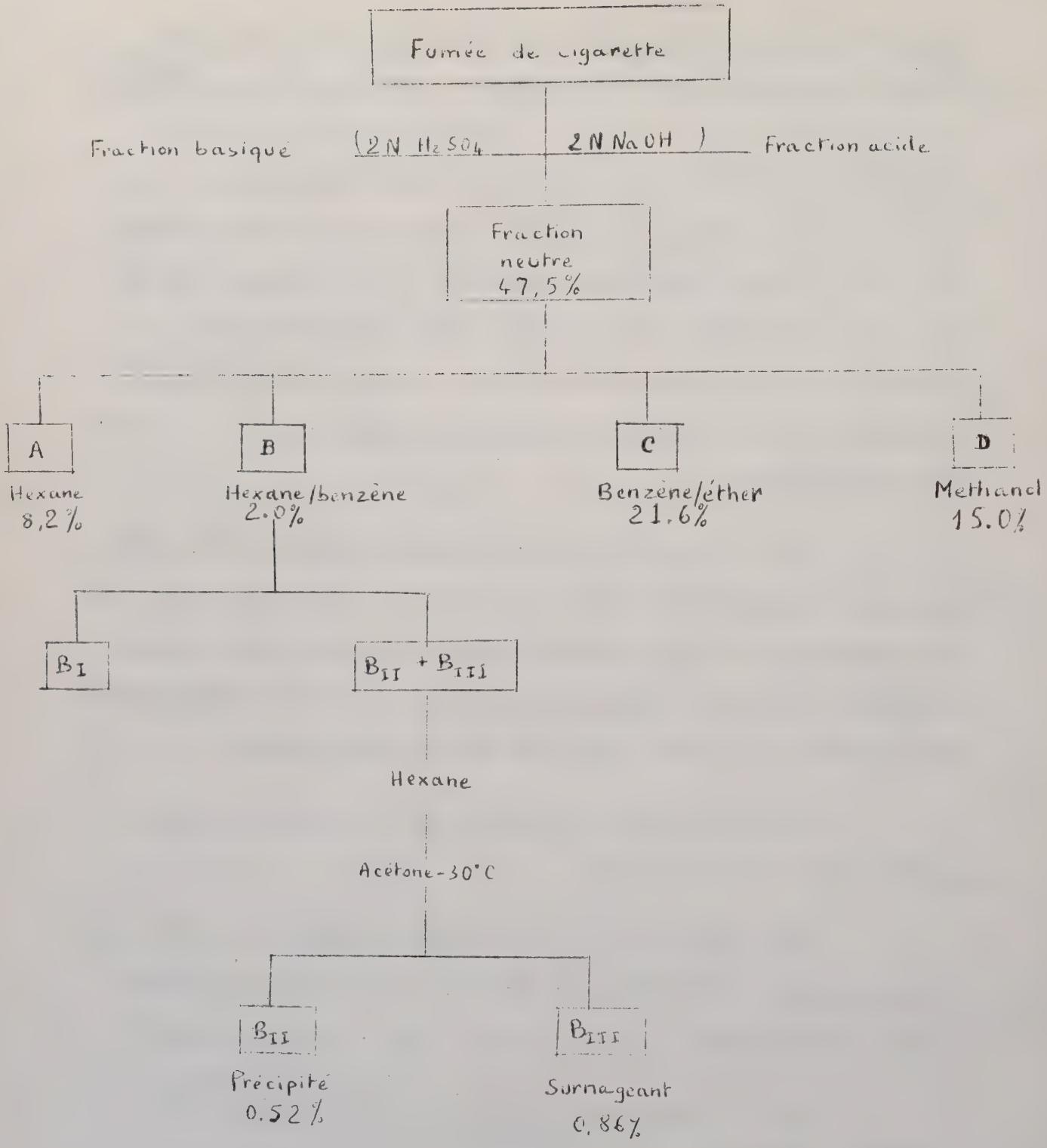
Ces fractions contiennent surtout des hydrocarbures aromatiques polycycliques.

Les études de fractionnement suggèrent que la plus grande partie des promoteurs se trouve dans les fractions acide faible (phénolique) et acide (397 - 403). (schéma).

Les terpènes seraient les promoteurs les plus importants.

Une activité promotrice fut aussi démontrée pour plusieurs phénols (398). SWAIN & Coll. (362) rapportent que certains acides gras, certains alcools pourraient avoir un effet co-carcinogène.

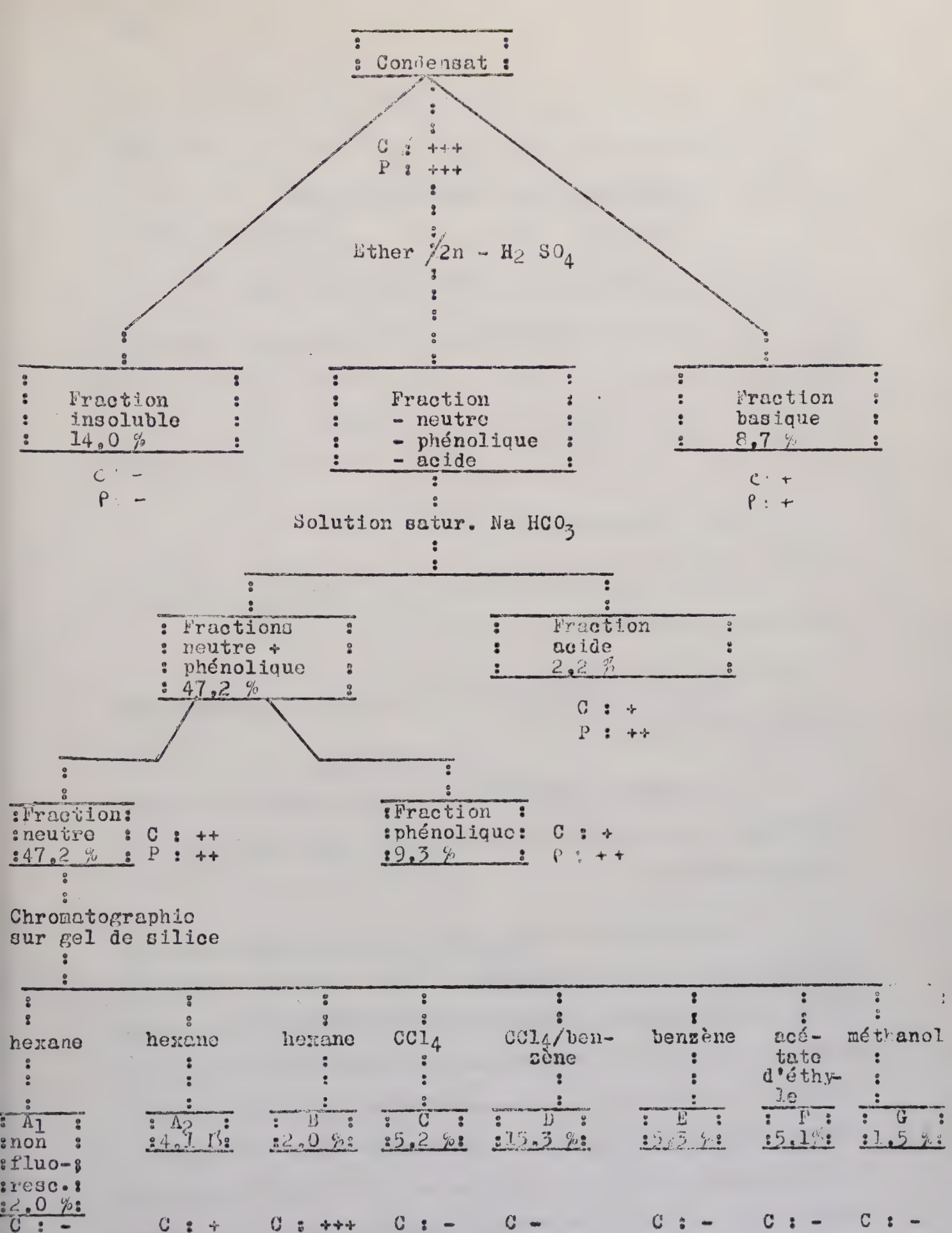
GUERIN (147) a étudié le pouvoir co-carcinogène du goudron de tabac chez la souris : par badigeonnage cutané



Sous-fractionnement de B

d'après WYNDER et HOFFMANN (400)

TABLEAU XI



Fractionnement du condensat de fumée de cigarette
c = activité carcinogène P = activité promotrice
D'après WYNDER & HOFFMAN 1968 (401)

TABLEAU XII

avec :

1 - du benzopyrène seul

2 - du benzopyrène suivi de goudron

3 - goudronde tabac seul

4 - du goudron de tabac plus huile de croton.

Le pourcentage de tumeurs observées fut, respectivement :

1 - 22 p. 100

2 - 58 p. 100

3 - 20 p. 100

4 - 4 p. 100.

Le pouvoir co-carcinogène du goudron de fumée de cigarette a été étudié sur 4 groupes de 80 souris.

Le premier était soumis à l'action initiatrice par du benzopyrène seul.

De deuxième également, en la complétant par des badigeonnages avec du goudron de fumée de cigarette (jouant le rôle de promoteur).

Le troisième a été soumis à l'action initiatrice du goudron, ainsi que le 4ème groupe. Puis, l'action promotrice a été provoquée dans le troisième lot en continuant des applications de goudron et, dans le 4ème, au moyen de l'huile de croton. Le pourcentage de tumeurs obtenues dans le second groupe (58 %), contre celui (22 %) observé dans le premier groupe, semble indiquer, pour l'auteur, un certain pouvoir cocancérigène du goudron de tabac, capable d'expliquer l'apparition du cancer pulmonaire chez les grands fumeurs.

Dans le développement du cancer pulmonaire, il faut

remarquer,que, à côté de l'action cancérigène de la ou des substances, tous les phénomènes qui vont intervenir pour retenir ce ou ces éléments, les faire s'accumuler, sont d'une extrême importance.

C'est ainsi que l'inhibition de la fonction muco-ciliaire, la perturbation des mécanismes d'épuration de l'arbre trachéo-bronchique, vont provoquer la rétentiondes carcinogènes, leur stagnation, leur permettant ainsi d'être absorbés et d'agir sur la cellule.

On a vu que le tabac compromettrait l'épuration pulmonaire en agissant sur l'activité muco-ciliaire et/ou l'activité macrophagique.

Ainsi que nous l'avons vu, parmi les substances ciliotoxiques, figurent en particulier :

- le cyanure d'hydrogène,
- l'acroléine,
- le formaldéhyde,
- l'acide formique,

ainsi que, mais à un moindre degré :

- l'acétaldéhyde,
- l'acide acétique,
- l'acide benzoïque,
- des phénols.

(401).

Ainsi, selon WYNDER & GOODMAN & HOFFMANN (690), le développement du carcinome bronchique se ferait en 3 étapes :

1 - altération de la barrière protectrice, représentée par la ciliature et le mucus,

2 - absorption et action sur la cellule des initiateurs tumoraux,

3 - absorption et induction du cancer au niveau de la cellule "initiée" par les co-carcinogènes.

Il est à noter que certains auteurs ont avancé que, dans l'induction d'un cancer épithélial portant des cellules à mucus, une modification du pH du milieu constituant l'environnement des cellules épithéliales vers la neutralité ou l'alcalinité serait responsable pour une grande part de la carcinogénèse.

Une des causes du cancer bronchique pourrait être, selon FENNER & BRAVEN (126), l'inhalation de composés (l'acétaldéhyde en particulier), de la fumée de cigarette, qui seraient capables de réagir avec les groupements thiols, provoquant, par ce moyen, l'inactivation de la cystéine libre des cellules de l'épithélium bronchique. Cette inactivation peut résulter dans la suppression de la protection contre la mutagénèse qui est normalement fournie par la cystéine.

5 - Action co-carcinogène du tabac. Etude expérimentale

On sait que le risque cancérigène du tabac ne peut être séparé, chez l'homme, d'un certain nombre de facteurs carcinogènes associés : substances radioactives, polluants urbains ou industriels, alcool, infections, lésions locales préexistantes, hérédité, influences hormo

Des études ont été entreprises chez des rats exposés à la fumée de cigarette, avec ou sans addition de Polonium 210,

afin de tenter d'établir un éventuel effet synergique entre l'irradiation alpha due au PO 210 et la fumée de tabac dans la genèse du cancer pulmonaire (100, p. 160).

Des expériences sont prévues en France, au CEA, essayant de préciser le rôle du tabac lors de la production expérimentale de cancer broncho-pulmonaire par le radon, chez l'animal.

Des travaux sont en cours (100, p. 11/2), étudiant l'effet de l'exposition à long terme, de hamsters, à des concentrations connues de poussières d'amiante, de N i O et de CoO. Certains des animaux sont exposés aussi à la fumée de cigarettes. Les résultats ne sont pas encore connus.

Des travaux semblables sont prévus chez le rat, étudiant l'interelation tabac et substances cancérigènes : tels l'amiante, l'uranium et les métaux lourds (100, p. 157).

WYNDER & HOFFMANN (400) rapportent l'utilisation de carcinogènes chimiques comme initiateurs, à des doses inférieures aux doses seules, les combinant avec l'administration de fumée de tabac. Ils rapportent en particulier les travaux de DONTENWILL & MOHR (104) : ces auteurs procédèrent à des instillations trachéales d'hydrocarbures cancérigènes, suivies d'exposition indirecte à la fumée en chambre d'inhalation.

Le rôle de l'infection virale fut aussi étudié.

C'est ainsi que les lésions cytologiques de l'appareil respiratoire de souris, après inhalation de fumée de cigarette ou exposition au virus, étaient, d'après LEUCHTEN-

BERGER & Coll. (235 - 236), similaires mais plus fréquentes après infection virale ou après exposition aux deux facteurs associés.

HARRIS & NEGRONI (165), lors d'expériences portant sur des souris de souche C_{57} BL, constatèrent l'apparition de cancers alvéolaires dans 4 % des cas, après inhalation d'un mélange d'air et de fumée de cigarette. Etudiant l'influence de l'exposition au virus Influenza, ils observèrent que l'infection virale seule produisait environ 2 % de carcinomes alvéolaires.

WEISS (100, p. 202) a aussi entrepris des études sur le développement de tumeurs pulmonaires chez les rongeurs, en combinant l'exposition à la fumée de cigarette ou à ses fractions avec des virus non oncogènes (virus Influenza).

6 - Réduction de l'effet cancérigène du tabac

(Ici nous étudierons la diminution de l'effet cancarigène d'un point de vue général et non pas seulement en se référant aux tumeurs pulmonaires).

Ce problème fut en particulier étudié par WYNDER & HOFFMANN (175 - 176 - 400 - 100, p.6).

Il serait ainsi possible d'agir par :

a - réduction du contenu total en goudron,

b - réduction des agents tumorigènes spécifiques,

c - réduction spécifique des agents cilliotoxiques.

Expérimentalement, on a pu établir que l'apparition de tumeurs chez l'animal est en relation avec la quantité de

goudron utilisé (43).

On a montré que la sélection de tabac, l'utilisation de papier poreux, de tabac coupé plus ou moins finement, et particulièrement l'emploi des "côtes" et de tabac reconstitué, pourraient réduire de façon nette la quantité de "goudron" absorbé par le fumeur (399 - 401 - 355 - 370 a - 244 - 409).

TODOROV (367), étudiant 56 marques de cigarettes, aurait montré que le contenu en goudron et en nicotine varie selon la marque, permettant ainsi au fumeur de choisir les cigarettes les "moins dangereuses".

DAVIES & WHITEHEAD (96) essayèrent de réduire l'effet cancérigène du tabac. Pour cela, ils modifièrent la proportion goudron/nicotine du condensat. La réduction de ce rapport fut obtenue à partir de tabac sélectionné, soigneusement mélangé pour produire une fumée à haute teneur en nicotine et avec une quantité de goudron à peu près normale. Après passage à travers un filtre adéquat, la fumée retrouvait un contenu en nicotine normal mais une quantité de goudron diminuée. Les auteurs n'observèrent aucune modification significative de l'effet cancérigène des condensats sur l'épiderme de souris.

La réduction sélective des substances cancérigènes et de la ciliotoxicité est tentée par de nombreux chercheurs.

La formation de carcinogènes "initiateurs" dans la fumée de tabac étant probablement provoquée par le degré de combustion et la présence possible de certains précurseurs, la modification de ces facteurs pourrait [illegible] à une diminution de ces substances "initiatrices" (401).

Il faut donc à nouveau souligner l'importance de la température du cône de combustion dans la pyrosynthèse des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Mais agir à ce niveau semble difficile (400). L'augmentation du contenu en nitrate du tabac, son addition aux cigarettes, réduiraient la formation des hydrocarbures polycycliques èt la production de tumeurs chez les animaux d'expérience (176 - 398 - 399 - 400).

WYNDER & HOFFMANN (401) pensent que les oxydes nitreux (provenant des nitrates) réagiraient dans les zones à haute température avec les radicaux (carbone et hydrogène) fournis par pyrolyse, empêchant ainsi la pyrosynthèse des hydrocarbures polynucléaires.

L'usage de certains solvants (chloroforme - tétrachlorure de carbone, hydrocarbures halogénés), pourraient aussi diminuer la quantitéde certains hydrocarbures aromatiques. Le contenu en 3-4 benzopyrène des tabacs Maryland, Oriental, ou Virginia, serait réduit d'au moins 50 % (336).

Le séchage du tabac pourrait aussi intervenir. C'est ainsi que la fumée provenant du tabac séché à l'air (air cured) serait moins tumorigène que celle du tabac séché à l'air chaud (flue cured) ou au soleil (suncured) (400 - 100, p.96).

Le condensat de ces deux derniers types de tabac contiendrait plus de benzopyrène et de phénols (399).

WYNDER & HOFFMANN (401) rappellent que le contenu en nitrate du tabac air-cured (plus de 5 %). est beaucoup plus élevé que celui du tabac flue-cured (moins de 1 %). Pour ces auteurs, l'activité biologique différente de ces tabacs, qui se reflète en quelque sorte par une composition chimique dif-

férente, devrait être complétée par des études épidémiologiques. Or, il apparaît que les Français, chez qui la fréquence du cancer broncho-pulmonaire est moindre que chez les Anglais, fument plutôt du tabac air-cured (avec un contenu en nitrate relativement élevé),alors que les Anglais fument plutôt du tabac flue-cured.

WYNDER & HOFFMANN rappellent que, de toute évidence, d'autres facteurs doivent être pris en considération dans les études comparatives entre ces deux pays.

La diminution de l'emploi d'insecticides et de certains agents fertilisants contribuerait sans doute à rendre le goudron moins cancérigène.

Quant aux filtres en acétate de cellulose, leur emploi serait illusoire (125), n'abaissant que très modestement la teneur en substances cancérigènes. Seule une bonne partie des phénols serait retenue. Par contre, l'emploi de filtres comportant du charbon activé serait de plus grande efficacité, réduisant les composants gazeux ciliotoxiques. Ceci, on l'a vu, a été vérifié expérimentalement par de nombreux auteurs (198 - 391 - 58).

TAYER & KENSLER (365) étudièrent la toxicité du condensat sur des cultures cellulaires tumorales KB. Le filtre à acétate de cellulose réduit l'activité de la phase particulaire, ce qui s'explique par la propriété qu'il a de réduire les solides de la fumée totale. Si l'on ajoute du charbon, l'activité se trouve encore plus diminuée. Ceci s'expliquerait par le fait que la toxicité de la phase particulaire est due aux composants de l'aérosol et à certains composants de la phase gazeuse, qui sont entraînés avec l'aérosol.

Des recherches sont actuellement en cours en Australie (100, p. 36) afin de savoir si un filtre contenant des fibres de laine pourrait retenir plus de substances cancérigènes que ne le font les filtres du commerce. Les études sont entreprises tant du point de vue chimique que du point de vue biologique.

IV - CONCLUSION

Pour affirmer la responsabilité du tabac dans l'accroissement alarmant du nombre des broncho-pneumopathies chroniques et des cancers bronchiques, responsabilité pressentie et même admise depuis longtemps par beaucoup, il fut nécessaire d'effectuer de nombreuses enquêtes épidémiologiques précises, minutieuses, et aussi, de recourir à l'expérimentation animale.

Le tabagisme a été reconnu comme la plus importante des causes de la bronchite chronique : les fumeurs de cigarettes ont un taux de morbidité et de mortalité par bronchite chronique et emphysème bien supérieur aux non-fumeurs. A côté de facteurs d'ordre génétique, anatomique, immunologique, enzymatique, apparaissent des éléments de nuisance agressant l'appareil respiratoire. Ces facteurs agissent simultanément et, parmi eux, le tabac semble un des co-facteurs principaux (64 - 65).

Les études épidémiologiques indiquent une association entre l'usage du tabac et certaines maladies respiratoires affectant la fonction ventilatoire (269 - 302). Bien plus, des modifications dela fonction ventilatoire apparaissent chez les fumeurs (413), qu'ils soient ou non porteurs d'une bronchite chronique et/ou d'emphysème.

Les études anatomiques de l'arbre trachéo-bronchique d'animaux soumis à la fumée de cigarette ont permis de constater un certain nombre d'altérations qui ressemblent aux lésions rencontrées en pathologie humaine : multiplication des

cellules à mucus, hypertrophie des glandes muqueuses, hyperplasie des cellules basales de l'épithélium, avec stratification de la muqueuse, altération du tapis ciliaire, avec disparition des cellules ciliées, lésions inflammatoires avec infiltration cellulaire de la paroi bronchique.

Au niveau du parenchyme pulmonaire, des lésions à type de rupture des septa, épaississement fibreux, ont été rapportées (15 - 167). En particulier, HERNANDEZ & Coll. (167) auraient obtenu des modifications parenchymateuses, ressemblant de très près aux lésions emphysémateuses de l'homme. La fumée de tabac intervient aussi dans la physiologie pulmonaire : elle altère les propriétés du surfactant, conduisant à des modifications de la tension de surface, favorisant de ce fait l'emphysème; elle agit, en empêchant par divers mécanismes, l'épuration pulmonaire normale : outre son effet toxique sur la ciliature, elle possède également un effet nocif sur la sécrétion muqueuse, de même qu'elle déprime l'activité phagocytaire des macrophages alvéolaires. Diverses études, dont certaines ont été effectuées chez l'homme, ont montré que la fumée de cigarette entravait la clearance pulmonaire, et les animaux soumis à la fumée se sont montrés plus sensibles aux infections pulmonaires. On voit ainsi la multiplicité des facteurs mis en jeu et le rôle complexe de la fumée de cigarette dans la génèse des bronchopneumopathies.

De même, le cancer du poumon chez l'homme, en particulier le cancer bronchogénique, s'est accru de façon inquiétante durant ces 50 dernières années, au point d'en être devenu un des plus sérieux problèmes de santé publique. Ceci est incontestablement en relation avec nombre de facteurs de

l'environnement, dont le tabac : les études épidémiologiques ont montré et montrent de façon évidente que la fumée de tabac est cancérigène pour l'épithélium des bronches. Cependant, cette notion requérait une preuve expérimentale.

Des études portant sur des tissus humains provenant de sujets porteurs de cancers broncho-pulmonaires montrent que des anomalies de la muqueuse trachéo-bronchique, comme la perte de la ciliation, l'hyperplasie des cellules basales, la métaplasie épidermoïde et les atypies cellulaires, sont importantes dans la pathogénèse du cancer pulmonaire de l'homme, provoqué par le tabagisme. Or, nombreuses sont les expériences qui, si elles n'ont pu provoquer de véritables cancers, ont abouti à de semblables modifications histologiques (14 - 318) et il faut ainsi souligner les difficultés à reproduire le cancer trachéo-bronchique chez l'animal d'expérience : des tumeurs de type adénomateux (adénome ou adéno-carcinome) ont été induites, mais ces néoformations n'offrent pas de ressemblance avec les tumeurs bronchiques les plus fréquemment rencontrées chez l'homme (213 - 403). Des cancers épidermoïdes de la bronche ont pu être produits chez l'animal en administrant du benzopyrène à haute concentration, avec un support comme l'hématite (330). ROCKEY & SPEER (318) ont obtenu un cancer in situ, par application directe de goudron sur l'épithélium respiratoire de chiens, au moyen d'un bronchoscope.

En fait, seules les expériences par inhalation se rapprochent des conditions humaines. Il semble même que les études faites en atmosphère de fumée (inhalation "passive") doivent céder la place aux méthodes d'inhalation "active", telles qu'elles sont réalisées par l'équipe de AUERBACH (14 - 15 - 16), chez le chien trachéotomisé. Ces dernières auraient, d'ailleurs,

abouti à des résultats positifs (cancers bronchiques de type épidermoïde). Ce dernier type d'expérience pourtant semble limité par la mort précoce (par emphysème et embolie), et par le coût de ces animaux. On peut aussi lui reprocher le fait que le dépôt des particules et la filtration par les voies aériennes supérieures ne peuvent s'effectuer.

On sait l'importance dans l'induction du cancer bronchique des facteurs intervenant pour gêner les mécanismes de défense naturelle de l'épithélium respiratoire : épuration pulmonaire entravée, conséquence de la perturbation de l'activité ciliaire et de la sécrétion muqueuse. Le rôle de la fumée et de ses éléments dans l'inhibition de telles fonctions a été clairement démontré du point de vue expérimental.

Rappelons encore l'importance des travaux expérimentaux étudiant le tabac en tant que co-facteur, agissant en synergie avec les autres carcinogènes : l'homme étant constamment exposé aux facteurs de l'environnement.

Enfin, il semble nécessaire de rappeler brièvement les conditions essentielles à observer lors de l'utilisation d'un modèle expérimental.

Que ce soit dans le cadre d'études portant sur les diverses fonctions du poumon ou sur les modifications lésionnelles, il est évident que les méthodes expérimentales devront respecter un certain nombre d'exigences si l'on veut obtenir des résultats valables, applicables à l'homme. La méthode utilisant l'inhalation de fumée apparaît ainsi la plus satisfaisante.

On a vu que la fumée de cigarette contient un grand nombre de substances, et que sa composition quantitative varie

avec beaucoup de facteurs, d'où la nécessité de produire la fumée selon les conditions dites "standard". Il faut utiliser une machine à fumer produisant : une bouffée de 35 ml, de durée : 2 secondes, toutes les minutes.

L'animal doit inhaler des doses convenables; tenant compte des 35 ml inhalés par l'homme, il faut adapter la dose à l'espèce animale (202). (Mais, comme on l'a vu, ceci est limité bien souvent par l'effet toxique du CO et de la nicotine). Le temps d'exposition doit être en rapport avec celui de l'homme (et il est ainsi nécessaire de tenir compte de la durée de vie de l'espèce animale). La fumée doit être inhalée profondément par la bouche (ainsi que le fait le fumeur) : ceci apparaît bien difficile, si ce n'est pour le singe (192), bien que celui-ci, s'il aspire la fumée par la bouche, ne l'inhale vraisemblablement pas comme le fait le véritable fumeur.

Enfin, il faut savoir apprécier les résultats en fonction des particularités anatomiques, physiologiques, de l'espèce animale utilisée.

Ainsi que nous le verrons, nombreux sont les laboratoires qui, à travers le monde, poursuivent des études expérimentales sur la pathologie respiratoire du tabac.

V. - RECENSEMENT DES PRINCIPAUX LABORATOIRES ETRANGERS.

ALLEMAGNE :

Pathologisch-Anatomischen Institut, Erlangen W. Germany

Institut der Wissenschaftlichen Forschungsstelle im Verband der Cigarettenindustrie, Hamburg W. Germany

ANGLETERRE :

Industrial Hygiene Research Laboratories, I.C.I., Ltd, Macclesfield (Dr D.M. Conning)

Imperial Cancer Research Fund, Division of Experimental Biology and Virology, Buttonhole Lane, The Ridgeway, London, N.W. 7 England

Insitutte of Cancer Research, Royal Marsden Hospital, Clifton Avenue, Belmont, Sutton, Surrey, England

London School of Hygiene And Tropical Medicine (London University), TUC Centenary Institute of Occupational Health, Keppel Street, London, W.C.1. England

Royal Postgraduate Medical School, Hammersmith Hospital, Ducane Road, London, W.12, England

AUSTRALIE :

University of Melbourne, Department of Physiology, Parkville, Victoria, Australia

ETATS-UNIS :

CALIFORNIA :

University of California, San Francisco Medical Center, Cancer Research Institute, 500 Parnassus Street, San Francisco, California 94122

University of California, School of Medicine, Department of Internal Medicine, Davis 95615

../....

COLORADO :

University of Colorado Medical Center and The Webb-Waring Institute, 4200 East 9 th Avenue, Denver, Colorado 80220

CONNECTICUT :

John B. Pierce Foundation Laboratory, 290 Congress Avenue, New Haven, Connecticut 06519

ILLINOIS :

Illinois Institute of Technology (IIT), Research Institute, 10 West 35 th Street, Chicago, Illinois 60616, Dr. R. Ehrlich

University of Illinois At The Medical Center, Hektoen Institute for Medical Research, 627 South Wood Street, Chicago, Illinois 60612

Evanston Hospital, Division of Otolaryngology, 2650 Ridge Avenue, Evanston, Illinois 00201

INDIANA :

Indiana University School of Medicine, 1100 West Michigan Street, Indianapolis, Indiana 46202

KENTUCKY :

University of Kentucky, Lexington, Kentucky 40506

University of Kentucky Medical Center, Department of Medicine, Lexington, Kentucky 40506

University of Kentucky Medical Center, Department of Pathology, Lexington, Kentucky 40506

University of Kentucky Medical Center, Department of Pharmacology, Lexington, Kentucky 40506

LOUISIANA :

Louisiana State University School of Medicine, Department of Pathology, 1542 Tulane Avenue, New Orleans, Louisiane 70112

MARYLAND :

U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, National Institutes of Health, National Cancer Institute, Bethesda, Maryland 20014

.../...

MASSACHUSETTS :

Bio-Research Institute, Inc., 9 Commercial Avenue, Cambridge, Massachusetts 02141

Mason Research Institute, 25 Harvard Street, Worcester, Massachussets 01608

Science Resources Foundation, 50, Hunt Street, Watertown, Massachusetts 02172

MINNESOTA :

St.Luke's Hospital, Research Laboratory, 915 East First Street, Duluth, Minnesota 55805

NEVADA :

U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, Southwestern Radiological Health Laboratory, P.O. Box 1-027, Las Vegas, Nevada 80114

NEW-JERSEY :

Veterans Administration Hospital, Tremont Avenue and South Center Street, East Orange, New Jersey 07019

NEW MEXICO :

University of New Mexico School of Medicine, Department of Anatomy, 915 Stanford Drive, N.E., Albuquerque, New Mexico 87106

NEW YORK :

Battelle Memorial Institute, Pacific Nortwest Laboratories, Biology Department, Battelle Northwest, P.O. Box [illegible], Richland, Washington 99352

New York University Medical Center, Department of Environmental Medicine, 550 First Avenue, New York, New York 10016, Dr. R.E. Albert

Sloan Kettering Institute for Cancer Research, New York

.../...

NORTH CAROLINA :

Duke University School of Medicine and Veterans Administration Hospital, Department of Medicine, Durham, North Carolina 27705

OHIO :

Ohio State University, Department of Veterinary Pathology, 1925 Coffey Road, Columbus, Ohio 43210

PENNSYLVANIA :

Hahnemann Medical College, Philadelphia General Hospital, Philadelphia, Pennsylvania 19104

University of Pennsylvania School of Medicine, Department of Pharmacology, Philadelphia, Pennsylvania 19104.

University of Pittsburgh Graduate School of Public Health, 130 De Soto Street, Pittsburgh, Pennsylvania 15213

UTAH :

Veterans Administration Hospital and University of Utah College of Medicine, Salt Lake City, Utah 84113

VERMONT :

University of Vermont College of Medicine, Given Medical Building, Room C-348, Burlington, Vermont 05401

WASHINGTON :

Washington State University, Department of Animal Sciences, Pullman, Washington 99163

Battelle Memorial Institute, Pacific Nortwest Laboratories, Biology Department, Battelle Nortwest, P.O. Box 999, Richland, Washington 99352

INDES :

Medical Department of the South Eastern Railway 11, Garden Reach Road, Calcutta-43, West Bengal, India

.../...

ITALIE :

Université de Perugia, Institut d'Hygiène, P.B. 324, 06100 Perugia

JAPON :

Cancer Institute, Kami-Ikebukuro 1-37-1, Toshima-ku, Tokyo 170

SUEDE :

National Institute of Public Health, 104 01 Stockholm 60, Sweden

Renstromska Sjukhuset (Renstromska Hospital), Lung Clinic S-40260 Goteborg, Sweden

SUISSE :

Swiss Federal Institute of Technology, Department of Hygiène and Work Physiology, Clausiusstrasse 25, CH-8006 Zurich, Switzerland

Swiss Institute for Experimental Cancer Research, Department of Cytochemistry, rue du Bugnon, 21, 1000-Lausanne, Switzerland

U.R.S.S. :

Institut d'Ocolongie Expérimentale et Clinique de l'Académie de Sciences Médicales, Moscou.

VI. - RECENSEMENT DES LABORATOIRES FRANCAIS.

1) CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (C.N.R.S.)
Institut de Recherches Scientifiques sur le cancer,
Laboratoire d'Etude sur les Effets Pathologiques du Tabac,
16 bis, avenue Paul-Vaillant Couturier, B.P. N° 8,
94 - VILLEJUIF.

Mrs. I. CHOUROULINKOV, P. LAZAR, M. GUERIN.

2) CENTRE D'ETUDES ET DE RECHERCHES TECHNIQUES SOUS-MARINES
Laboratoire de Physiotoxicologie,
83 - TOULON-NAVAL.

Dr. R. GUILLERM.

3) LABORATOIRE DE L'INSTITUT PASTEUR
20, boulevard Louis XIV,
59 - LILLE.

Pr. C. VOISIN.

4) COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE
Centre d'Etudes Nucléaires de
92 - FONTENAY-aux-ROSES.

Dr. J. LAFUMA.

5) CENTRE HOSPITALIER DE MEAUX
77 - MEAUX.

Dr. J.L. HAPPERT.

VII - BIBLIOGRAPHIE

1 - ALBERT (R.E.), ALESSANDRO (D.), LIPPMANN (M.), BERGER (J.) : "Long-term smoking in the donkey. Effect on tracheobronchial particle clearance." ARCH. ENVIRON HEALTH. 1971, 22 : 12/9.

2 - ALBERT (R.E.), LIPPMANN (M.), BRISCOE (W.) : "The characteristics of bronchial clearance in humans and the effects of cigarette smoking." ARCH. ENVIRON. HEALTH., 1969, 18 : 738/55.

3 - ALBERT (R.E.), SPIEGELMAN (J.R.), SHATSKY (S.), LIPPMANN (M.) : The effect of acute exposure to cigarette smoke on bronchial clearance in the miniature donkey. ARCH. ENVIRON. HEALTH., 1969, 18 : 30/41.

4 - ALEXANDROV (K.), RAICHEV (P.) : Contribution au problème du pouvoir carcinogène du tabac. C.R. ACAD. BULGARE SCI., 1963, 16 : 329/32.

5 - ALEXANDROV (K.) : Research on the RNA - DNA ratio in lungs of rats after inhalation of cigarette smoke. DOKL. BOLG. AKAD. NAU 1965, 18 : 73/4.

6 - ANDERVONT (H.B.) : Pulmonary tumors in mice : IV. injection of 1, 2, 5, 6 - dibenzanthracene in different media and by its direct contact with lung tissue. PUBLIC HEALTH REP., 1937, 52 : 1584.

7 - ANDERVONT (H.B.) : The occurence of spontaneous and induced pulmonary and liver tumors in strain C3H mice. PUBLIC HEALTH REP., 1939, 54 : 1158/69.

8 - ANGUERA (G.), VIART (P.) : Le test ciliaire. Annales de la direction des études et le l'Equipement. SEITA (Section 1), 1965 (3) 75/85.

9 - APPLEYARD (J.H.), JAFFE (A.A.) : Electrical charges on the smoke from cigarettes and tobacco. PHYS. MED. BIOL. 1962, 7 : 195/9.

10 - ARMITAGE (A.K.), HALL (G.H.), HENEAGE (E.) : A smoking simulato for the controlled presentation of tobacco smoke to laboratory animals. BRIT. J. PHARMACOL., 1969, 36 : 211P/2P.

11 - ATTINGER (E.O.), GOLDSTEIN (M.M.), SEGAL (M.S.) : Effects of smoking upon the mechanics of breathing : I. In normal subjects AMER. REV. TUBERC., 1958, 77 : 1/9.

12 - ATTINGER (E.O.), GOLDTEIN (M.M.), SEGAL (M.S.) : Effects of smoking upon the mechanics of breathing. II. In patients with cardio-pulmonary disease. AMER. REV. TUBERC., 1958, 77 : 10/6.

13 - AUERBACH (O.), GERE (J.B.), FORMAN (J.B.), PETRICK (T.G.), SMOLIN (H.J.), MUEHSAM (G.E.), KASSOUNY (D.Y.), STOUT (A.P.) : Changes in the bronchial epithelium in relation to smoking and cancer of the lung. NEW. ENG. J. MED., 1957, 256 : 97/104.

14 - AUERBACH (O.), HAMMOND (E.C.), KIRMAN (D.), GARFINKEL (L.), STOUT (A.S.) : "Histologic changes in bronchial tubes of cigarette-smoking dogs". CANCER, 1967, 20 : 2055/66.

15 - AUERBACH (O.), HAMMOND (E.C.), KIRMAN (D.) and GARFINKEL (L.) : "Emphysema produced in dogs by cigarette smoking". J.A.M.A., 1967, 199 : 241/6.

16 - AUERBACH (O.), HAMMOND (E.C.), KIRMAN (D.), GARFINKEL (L.) : "Effects of cigarette smoking on dogs. II Pulmonary neoplasms" ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1970, 21 : 754/68.

17 - AUERBACH (O.), PETRICK (T.G.), STOUT (A.P.), STATSINGER (A.L.) MUEHSAM (G.E.), FORMAN (J.B.), GERE (J.B.) - "The anatomical approach to the study of smoking and bronchogenic carcinoma. A proliminary report of forty-one cases". CANCER, (PHILA.), 1956, 9 : 76/83.

18 - AUERBACH (O.), STOUT (A.P.), HAMMOND (E.C.), GARFINKEL (L.) : "Changes in bronchial smoking and in relation to lung cancer". NEW.ENG. J. MED., 1961, 265 : 253/67.

19 - AUERBACH (O.), STOUT (A.P.), HAMMOND (E.C.), GARFINKEL (L.) : "Changes in bronchial epithelium in relation to sex, age, residence, smoking and pneumonia". NEW. ENG. J. MED., 1962, 267 : 111/9.

20 - AUERBACH (O.), STOUT (A.P.), HAMMOND (E.C.), GARFINKEL (L.) : "Bronchial epithelium in former smokers". NEW. ENG. J. MED., 1962, 267 : 119/23.

21 - AVIADO (D.M.), CARRILLO (L.R.) : "Hormones and pulmonary effects of tobacco. I. Corticosteroïds and their antiasthmatic action". ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1969, 18 : 925/33.

22 - AVIADO (D.M.), PALECEK (F.) : "Pulmonary effects of tobacco and related substances : I. Pulmonary compliance and resistance in the anesthetized dog". ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1967, 15 : 187/93.

23 - AVIADO (D.M.), SAMANEK (M.) : "Bronchopulmonary effects of tobacco and related substances. I. Bronchoconstriction and bronchodilatation. Influence of lung denervation". ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1965, 11 : 141/51.

24 - AVIADO (D.M.), SAMANEK (M.), FOLLE (L.E.) : "Cardiopulmonary effects of tobacco and related substances. I. The release of histamine during inhalation of cigarette smoke and anoxemia in the heart-lung and intact dog preparation". ARCH. ENVIRON HEALTH, 1966, 12 : 705/24.

25 - BAILEY (E.J.), KENNAWAY (E.L.), URQUHART (M.E.) : "Arsenic content of cigarettes". BRIT. J. CANCER, 1957, 11 : 49/53.

26 - BAIR (W.J.), DILLEY (J.V.) : "Effect of cigarette smoking on fate of inhaled particles". PACIFIC NORTHWEST LABORATORY. ANNUAL REPORT FOR 1965 IN THE BIOLOGICAL SCIENCES. BATTELLE MEMORIAL INSTITUTE, 1966, p. 66/70.

27 - BALIS (J.V.), CONEN (P.E.) : "The role of alveolar inclusion bodies in the developing lung". LAB. INVEST., 1964, 13 : 1215/29.

28 - BALLENGER (J.J.) : "Experimental effect of cigarette smoke on human respiratory cilia". NEW. ENG. J. MED., 1960, 263 : 823/5.

29 - BALLENGER (J.J.), DAWSON (F.W.), DE RUYTER (M.G.), HARDING (H.B.) : "Effects of nicotine on ciliary activity in vitro". ANN. OTOL., 1965, 74 : 403/11.

30 - BALLENGER (J.J.), ORR (M.F.) : "Quantitative measurement of human ciliary activity". ANN. OTOL., 1963, 72 : 31/9.

31 - BATTISTA (S.P.), DINUNZIO (J.), KENSLER (C.J.) : "A versatile apparatus for studying the effects of gases aerosols and drugs on ciliary activity in the non-immersed mammalian tracnea". FED. Proc., 1962, 21 : 453.

32 - BATTISTA (S.P.), KENSLER (C.J.) : Use of the chicken for studies of mucus transport activity in vivo. PHARMACOLOGIST, 1965, 7 : 150.

33 - BATTISTA (S.P.), KENSLER (C.J.) : Use of the nonimmersed in vitro chicken tracheal preparation for the study of ciliary transport activity - cigarette smoke and related components. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1970, 20 : 318/25.

34 - BATTISTA (S.P.), KENSLER (C.J.) : Mucus production and ciliary transport activity. In vivo studies using the chicken. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1970, 20 : 326/38.

35 - BELLET (S.), WEST (J.W.), MANZOLI (U.C.), MULLER (O.F.), ROSSI (P.) : Effect of nicotine on the coronary blood flow in the presence of coronary insufficiency : an experimental study in dogs. ANN. N.Y. ACAD. SCI., 1960, 90 : 317/26.

36 - BERNFIELD (P.), NIXON (C.W.), HOMBURGER (F.) : Studies on the effect of irritant vapors on ciliary mucus transport. I. Phen and cigarette smoke. J. TOXIC APPL. PHARMACOL., 1964, 6 : 103/11.

37 - BERTALANFFY (F.D.) : Respiratory tissue : structure, histophysiology, cytodynamics : II. New approaches and interpretations. INT. REV. CYTOL., 1964, 17 : 213/97.

38 - BEST (E.W.R.) : A Canadian study of smoking and health. OTTAWA DEPARTMENT OF NATIONAL HEALTH AND WELFARE, 1966, 137pp.

39 - BICKERMAN (H.A.), BARACH (A.L.) : Effect of cigarette smoking on ventilatory function in patients with bronchial asthma and obstructive pulmonary emphysema. J. LAB. CLIN. MED., 1954, 43 : 455/62.

40 - BLACKLOCK (J.W.S.) : The production of lung tumors in rats by 3:4 benzpyrene, methylcholanthrene and the condensate - from cigarette smoke. BRIT. J. CANCER , 1957, 11 : 181/91.

41 - BLACKLOCK (J.W.S.) : An experimental study of the pathological effects of cigarette condensate in the lungs with special reference to carcinogenesis. BRIT. J. CANCER, 1961, 15 : 745/62.

42 - BOCHE (R.D., QUILLIGAN (J.J.) : The effects of air polluants on tissue cultures. FED. PROC., 1959, 18 : 559.

43 - BOCK (F.G.) : Dose Response : Experimental carcinogenesis. In WYNDER (E.L.), HOFFMANN (D.), éditors. "Toward a Less Harmful cigarette". BETHESDA, U.S. PUBLIC HEALTH SERVICE, NAT. CANCER INST. MONOGR., JUNE 1968, 28.

44 - BONDURANT (S.) : The alveolar lining : a method of extraction; the surface tension lowernig effect of cigarette smoke. J. CL INVEST., 1960, 39 : 973/4.

45 - BONNET (J.), MEUKOMM (S.) : Résultats actuels des recherches chimiques sur la composition de la fumée du tabac. ONCOLOGIA, 1957, 10 : 124/9.

46 - BONNET (J.), NEUKOMM (S.) : Carcinogenic and co-carcinogenic substances in tobacco smoke. ACTA UN. INT. CANCR., 1959, 15 : 561/3.

47 - BOYLAND (E.), ROE (F.J.C.), GORROD (J.W.) : Induction of pulmonary tumours in mice by nitrosononornicotine, a possible constituent of tobacco smoke. NATURE (LONDON), 1964, 202 : 1126.

48 - BRADFORD (J.A.), HARLAN (W.R.), HAMMER (H.R.) : Nature of cigarette smoke. Technique of Experimental smoking. INDUST. & ENGIN. CHEM., 1936, 28 : 836/9.

49 - BRAUN (C.), OSCH (E.), SCHERTZ (L.) : Beitrag zum Studium des Pfeifenrauchens. BEITR. TABAKFORSCH., 1967, 4 : 32/9.

50 - BRETTHAUER (E.W.), BLACK (S.C.) : Polonium-210 : Removal from smoke by resin filters. SCIENCE, 1967, 155 : 1375/6.

51 - BRILLE (D.) : Possibilités du dépistage au stade initial de la bronchite chronique et de l'emphysème pulmonaire. REV. MED., 1970, 57 : 2201/10.

52 - BRITISH MEDICAL JOURNAL : Arsenic and lung cancer. BRIT. MED. J., 1964, 1 : 1699.

53 - BRODEY (R.S.), CRAIG (P.H.) : Primary pulmonary neoplasn in the dog : a review of 29 cases. JOURNAL OF THE AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION J. AMER. VET. MED. ASS., 1965, 147 : 1628/43.

54 - BULLOCK (F.D.), CURTIS (M.R.), Amer. J. Cancer, 1930, 14 : 1, cités par : BLACKLOCK (J.W.S.) : an experimental study of the pathological effects of cigarette condensate on the lungs with special reference to carcinogenesis. BRIT. J. CANCER, 1961, 15 : 745/62.

55 - CAHAN (W.G.), KIRMAN (D.) : An effective system and procedure for cigarette smoking by dogs. J. SURG. RES., 1968, 8 : 567/75.

56 - CAMPBELL (J.A.) : The effects of exhaust gases from internal combustion engines and of tobacco smoke upon mice, with special reference to incidence of tumours of the lung. BRIT. J. EXP. PATH., 1936, 17 : 146/58.

57 - CAMPBELL (J.M.), LINDSEY (A.J.) : Polycyclic hydrocarbons in cigar smoke. BRIT. J. CANCER, 1957, 11 : 192/5.

58 - CARSON (S.), GOLDHAMER (R.), CARPENTER (R.) : Responses of ciliated epithelium to irritants. Mucus transport in the respiratory tract. AMER. REV. RESP. DIS., 1966, 93 (pt2) : 86/92.

59 - CARSON (S.), GOLDHAMER (R.), MACKARS (A.), SILSON (J.E.) : Effects of cigarette smoke on respiratory function. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1965, 11 : 635/40.

60 - CASARET (L.J.) : The role of radioactive substances in effects of smoking. In. WYNDER (E.L.), HOFFMANN (D.), éditors : Toward a Less Harmful Cigarette. BETHESA, U.S. PUBLIC HEALTH SERVICE, NAT. CANCER INST. MONOGR., JUNE 1968, 28.

61 - CHANG (S.C.) : Studies of bronchial epithelium from smokers and nonsmokers. PROC. AM. ASS. CANCER RES., 1956, 2 : 99.

62 - CHO (W.Y.), JAMANEK (M.), AVIADO (D.M.) : Differences in the effects of inhalation of sulfur dioxide and cigarette smoke. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1968, 16 : 651/5.

63 - CHOJNOWSKI (J.R.), DORABIALSKA (A.) : Zagadnienie rakotwórczósci dymu tytoniowego w oparciu o badania promieniotwórczósci. POL. TYG. LEK. 1957, 12 : 1181/4.

64 - CHRETIEN (J.) : Facteurs favorisant et aggravant de la bronchite chronique et de l'insuffisance respiratoire chronique - Usage du tabac - JOURNEES DE MEDECINE PREVENTIVE ET SOCIALE - AVIGNON 1970.

65 - CHRETIEN (J.), HIRSCH (A.) : Tabac et bronchite chronique. REV. PRAT. (Paris), 1972, 22 : 375/87.

66 - CLARKE (S.G.), GUYATT (A.R.), ALPERS (J.H.), FLETCHER (C.M.), HILL (I.D.) : Changes in airways conductance on smoking a cigarette. THORAX, 1970, 25 : 418/22.

67 - COMMINS (B.T.), COOPER (R.L.), LINDSEY (A.J.) : Polycyclic hydrocarbons in cigarette smoke. BRIT. J. CANCER, 1954, 8 : 296/302.

68 - COMROE (J.H., Jr), SADEL (J.) : The effect of smoking and nicotine on respiration. In : TOBACCO AND HEALTH, 1962, p. 233/43.

69 - COOPER (R.L.), CAMPBELL (J.M.) : Part. II. Chemical identification of carcinogens. BRIT. J. CANCER, 1955, 9 : 528/38.

70 - COOPER (R.L.), GILBERT (J.A.), LINDSEY (A.J.) : Polycyclic hydrocarbons in cigarette smoke : The contribution made by the paper. BRIT. J. CANCER, 1955, 9 : 442/4.

71 - COOPER (R.L.), LINDSEY (A.J.) : 3-4 benzpyrene and other polycyclic hydrocarbons in cigarette smoke. BRIT. J. CANCER, 1955, 9 : 304/9.

72 - CURTIS (M.R.), BULLOCK (F.D.), DUNNING (W.F.). AMER. J. CANCER, 1931, 15 : 67, cités par : BLACKLOCK (J.W.S.) : An experimental study of the pathological effects of cigarette condensate in the lungs with special reference to carcinogenesis. BRIT. J. CANCER, 1961, 15 : 745/62.

73 - DALHAMN (T.) : Mucus flow and ciliary activity in the trachea of healthy rats and rats exposed to respiratory irritant gases. (SO_2 - NH_3 - HCHO). ACTA. PHYSIOL. SCAND., 1956, 36 (suppl. 123) : 13/160.

74 - DALHAMN (T.) : The effect of cigarette smoke on ciliary in the upper respiratory tract. A.M.A. ARCH. OTOLAR., 1959, 70 : 166/8.

75 - DALHAMN (T.) : The determination in vivo of the rate of the ciliary beat in the trachea. ACTA PHYSIOL. SCAND., 1960, 49 : 242/4.

76 - DALHAMN (T.) : The effect of Ammonia Alone and Combined with carbon Particles on ciliary Activity in the Rabbit trachea in vivo with studies of the absorptional capacity of the nasal cavity. INT. J. AIR WATER POLL., 1963, 7 : 531/9.

77 - DALHAMN (T.) : Studies on tracheal ciliary activity. Special reference to the effect of cigarette smoke in living animals. AMER. REV. RESP. DIS., 1964, 89 : 870/7.

78 - DALHAMN (T.) : Effect of cigarette smoke on ciliary activity. AMER. REV. RESP. DIS., 1966, 93 (pt2) : 108/14.

79 - DALHAMN (T.) : Inhibition of the ciliostatic effect of cigarette smoke by oxolamine citrate. AMER. REV. RESP. DIS., 1966 : 94 : 799/800.

80 - DALHAMN (T.) : The anticiliostatic effect of cigarettes treated with oxalamine citrate. AMER. REV. RESP. DIS., 1969, 99 : 447/8.

81 - DALHAMN (T.), EDFORS (M.L.), RYLANDER (R.) : Retention of cigarette smoke components in human lungs. ARCH. ENVIRON HEALTH, 1968, 17 : 746/8.

82 - DALHAMN (T.), EDFORS (M.L.), RYLANDER (R.) : Mouth absorption of various compounds in cigarette smoke. ARCH. ENVIRON HEALTH, 1968, 16 : 831/5.

83 - DALHAMN (T.), RYLANDER (R.) : Ciliostatic action of smoke from filtertipped and non-tipped cigarettes. NATURE (LONDON),

1964, 201 : 401/2.

84 - DALHAMN (T.), RYLANDER (R.) : Ciliostatic action of cigaret smoke. Varying exposure time. ARCH. OTOLARYNG (Chicago), 19 81 : 379/82.

85 - DALHAMN (T.), RYLANDER (R.) : Cigarette smoke and ciliostasi Effect of varying composition of smoke. ARCH. ENVIRON HEALTH 1966, 13 : 47/50.

86 - DALHAMN (T.), RYLANDER (R.) : Cigarette smoke and ciliastasis. ARCH. ENVIRON HEALTH, 1967, 14 : 372/3.

87 - DALHAMN (T.), RYLANDER (R.) : Tar content and ciliotoxicity of cigarette smoke. ACTA PHARMACOL. (Kobenhavn), 1967, 25 (3 369/72.

88 - DALHAMN (T.), RYLANDER (R.) : Ciliotoxicity of cigarette smoke and its volatile components. AMER. REV. RESP. DIS., 1968, 98 : 509/11.

89 - DALHAMN (T.), RYLANDER (R.) : Experimental requirements for the toxicologic evaluation of tobacco smoke in respiratory system. AMER. REV. RESP. DIS., 1969, 100 : 252/3.

90 - DALHAMN (T.), RYLANDER (R.) : Ciliotoxicity of cigar and cigarette smoke. ARCH. ENVIRON.HEALTH, 1970, 20 : 252/3.

91 - DALHAMN (T.), RYLANDER (R.), SPEARS (A.W.) : Differences in ciliotoxicity of cigarette smoke. AMER. REV. RESP. DIS., 196 96 (5), 1078/9.

92 - DALHAMN (T.), VON HESSEN (E.), KAJLAND (A.), RYLANDER (R.) : A machine for introducing a regulated amount of tobacco smok into an animal. INT. J. AIR. WATER POLLUT., 1963, 7 : 511/5.

93 - DAMOISEAU (J.), PETIT (J.M.), TROQUET (J.), PIRNAY (F.E.) : Action de la fumée de tabac sur les résistances au courant aérien. J. PHYSIOL. (PARIS), 1962, 54 : 318/9.

94 - DAMOISEAU (J.), PETIT (J.M.), TROQUET (J.), PIRNAY (F.) : Influence de la fumée de tabac sur les résistances dynamique pulmonaires chez l'homme sain. ARCH. INT. PHYSIOL., 1962, 70 : 431/5.

95 - DA SILVEI (I.C.) : Cigarro e "Surfactant". REV. SERV. NAC. TUBER., 7, 11 : 287/8.

96 - DAVIES (R.F.), WHITEHEAD (J.R.) : A study of the effects of

altering the tra/nicotine ratio in experimental tobacco carcinogenesis. BRIT. J. CANCER, 1970, 24 : 191/4.

97 - DELLA PORTA (G.), KOLB (L.), SHUBIK (P.) : Induction of tracheobronchial carcinomas in the Syrian Golden Hamster; CANCER RES., 1958, 18 : 592/7.

98 - DENOIX (P.F.), SCHWARTZ (D.), ANGUERA (G.) : L'enquête française sur l'étiologie du cancer bronchopulmonaire. Analyse détaillée. BULL. CANCER (PARIS), 1958, 45 : 1/37.

99 - DI PAOLO (J.A.) : Effect of cigarette-smoke condensates on homografts of neonatal lung tissue in mice. NATURE (LONDON), 1964, 204 : 1159/61.

100 - DIRECTORY of on going research in smoking and health (1 vol.) U.S. DPT OF HEALTH, education and Welfare edit. 1970 (p. : 4-6-11/2-24/5-36-57-80/1-82/3-96-100/1-104-157-160-174-180-185-199-247/8).

101 - DOLL(R.), HILL (A.B.) : A study of the aetiology of carcinoma of the lung. BRIT. MED. J., 1952, 2 : 1271/86.

102 - DOLL (R.), HILL (A.B.); Lung cancer and other causes of death in relation to smoking. A second report on the mortality of British doctors. BRIT. MED. J.,1956, 2 : 1071/81.

103 - DOLL (R.), HILL (A.B.) : Mortality in relation to smoking : Ten years observations of British doctors. BRIT. MED. J., 1964; 1 : 1460/7 (b) - BRIT. MED. J., 1964, 1 : 1399/410 (a).

104 - DONTENWILL (W.), MOHR (U.) : Experimentelle Untersuchungen zum Problem der Carcinomentstehung im Respirationstrakt. II Die Wirkung von Tabakrauchkondensaten und Zigarettenrauch auf die Lungs des Goldhamsters. Z. KREBSFORSCH, 1962, 65 : 62/8.

105 - DONTENWILL (W.), RECKZEH (G.), STADLER (L.) : Inhalationsexperimente mit Cigareetenrauch. BEITR. TABAKFORSCH., 1966, 3 (6) : 438/48

106 - DONTENWILL (W.), RECKZEH (G.), STADLER (L.) : Berauchungsapparatur fur laboratorimstiere. BEITR. TABAKFORSCH., 1967, 4 : 45/9.

107 - DOUGLAS (J.S.), RIDGWAY (P.), DENNIS (M.W.) : Histamine release by air pollutants. ARCH. ENVIRON HEALTH, 1969, 18 : 627/30.

108 - DUBOIS (A.B.), BOTELHO (S.Y.), COMROE (J.H.) Jr : A new method for measuring airway resistance in man using a body plethysmograph : values in normal subjects and in patients with

respiratory disease. J. CLIN. INVEST., 1956, 35 : 327/35.

109 - EHRLICH (R.) : Effect of air pollutants on respiratory infection. ARCH. ENVIRON HEALTH, 1963, 6 : 638/42.

110 - EICH (R.H.), GILBERT (R.), AUCHINCLOSS (J.H.) Jr : The acute effects of smoking on the mechanics of respiration in chronic obstructive pulmonary emphysema. AMER. REV. TUBERC., 1957, 76 : 22/32.

111 - ELMENHORST (H.) : Eine automatische schnellrauchaschine fur serienanalysen und fur die praparative gewinnung von rauchkondensaten. Teil II. Automatische schnellrauchmaschine zur praparativen gewinnung von tabakrauchkindensaten. BEITR. TABAKFORSGH., 1965, 3 : 78/82.

112 - ELMENHORST (H.) : Eine methode zur bestimmung des nikotins in hamsterlungen. BEITR. TABAKFORSCH., 1966, 3 : 449/53.

113 - ELMENHORST (H.) : Eine vollautomatische rauchmaschine fur die herstellung grosser mengen von cigarettenrauchkondensaten. BEITR. TABAKFORSCH., 1966, 3 : 545/53.

114 - ELMENHORST (H.), STADLER (L.) : Beitrag zum problem des maschinellen pfeifenabrauchens. BEITR. TABAKFORSCH., 1967, 4 (1) : 21/31.

115 - ELSBACH (R.) : Increased synthesis of phospholipid during phagocytosis. J. CLIN. INVEST., 1968, 47 : 2217/29.

116 - ELSON (L.A.), PASSEY (R.D.) : Biochemical effects of tobacco smoke and nicotine inhalation. ACTA. UN. INT. CANCR., 1963, 19 : 715/7.

117 - ERMALA (P.), HOLSTI (L.R.) : Distribution and absorption of tobacco tar in the organs of the respiratory tract. CANCER (PHILA.), 1955, 8 : 673/8.

118 - ERNST (A.M.) : Einfluss einiger Narkotika auf der Effekt der Bewegungen des Flimmerepithels in Trachea und Bronchi. ARCH. INT. PHARMACODYN, 1938, 58 : 208.

119 - ESSENBERG (J.M.) : Cigarette smoke and the incidence of primary neoplasm of the lung in the albino mouse. SCIENCE, 1952, 116 : 561/2.

120 - ESSENBERG (J.M.) : Effects of cigarette smoke on lung tumors of laboratory animals. J.A.M.A., 1954, 156 : 909.

121 - ESSENBERG (J.M.) : Incidence of lung tumors in Albino Mice Exposed to smoke of cigarette paper. SCIENCE, 1954, 120 : 1000.

122 - ESSENBERG (J.M.), HOROWITZ (M.), GAFFNEY (E.) : The incidence of lund tumors in albino mice exposed to the smoke from cigarettes low in nicotine contant. WEST. J. SURG., 1955, 63 : 265/7.

123 - ESSENBERG (J.M.), LEAVITT (A.M.), GAFFNEY (C.) : Theeffect of arsenic in tobacco on primary neoplasm of lungs of albino mice. WEST. J. SURG., 1965, 64 : 35/6.

124 - FALK (H.L.), TREMER (H.M.), KOTIN (P.) : Effect of cigarette smoke and its constituents on ciliated mucus-secreting epithelium. J. NAT. CANCER INST., 1959, 23 : 999/1012.

125 - FAUVET (J.) : Sur les facteurs favorisant ou provoquant le cancer bronchique. REV. PRAT. (Paris), 1961, 11 : 849/56.

126 - FENNER (M.L.), BRAVEN (J.) : The mecanism of carninogenesis by tobacco smoke. Funther experimental evidence and a prediction from the thiol-defence hypothesis. BRIT. J. CANCER, 1968, 22 : 474/9.

127 - FERIN (J.), URBANKOVA (G.), VLCKOVA (A.) : Nature, 1965, 206 : 516/6, d'après BAIR & DILLEY (26).

128 - FERRI (E.S.), BARATTA (E.J.) : Polonium-210 in tobacco products and human tissue. RADIOL. HEALTH DATA REP., 1966, 7 (9) : 485/8.

129 - FERNANDES (M.C.) : Contribuçao ao estudo da etiologia do cancer. BRASIL MED., 1954, 68 : 241/8.

130 - FLETCHER (C.M.) : Chronic bronchitis. Its prevalence, nature and phatogenesis. AMER. REV. RESP. DIS., 1959, 80 : 483/94.

131 - FLETCHER (C.M.), HORN (D.) : Usage du tabac et santé. CHRONIQUE ORG. MOND. SANTE., 1970, 24 (n° 8) : 378/405.

132 - FLORY (C.M.) : The production of tumors by tobacco tars. CANCER RES., 1941, 1 : 262/76.

133 - FRANCES (W.), ALESSANDRO (D.), LIPPMANN (M.), PROCTOR (D.E.), ALBERT (R.E.) : Effect of cigarette smoke on particule transport on nasociliary mucosa of donkeys. ARCH. ENVIRON HEALTH, 1970, 21 : 25/31.

134 - FREOUR (P.), COUDRAY (P.) : Etude épidémiologique des troubles

broncho-respiratoires dans une grande agglomération urbaine. BULL. INST. NAT. SANTE, 1967, 22 : 901/26.

135 - FREOUR (P.), COUDRAY (P.), FONTAN (M.E.C.) : Approche pour une lutte contre l'intoxication tabagique. Données épidémiologiques sur un groupe d'adultes des deux sexes. BULL. ACAD. NAT. MED. (PARIS), 1970, 154 : 633/48.

136 - FREUND (J.) : The effect of cigarette smoking on the normal male peripheral circulation, utilizing multitechnical procedives. CIRCULATION N.Y., 1957, 16 : 883.

137 - FREUND (J.), WARD (C.) : Cardiovascular effects of nicotine and smoking. PART. III. The influence of nicotine and smoking on the peripheral circulation. The acute effect of cigarette smoking on the digital circulation in health and disease. ANN. N.Y. ACAD. SCI., 1960, 90 : 85/101.

138 - GEORGADZE (G.E.), KRASNYANAKAYA (P.N.) : Izmenenige v dykhatel'nykh putyakh krolikov pri dlitel'nom vozdeystuii tabachnym dymom'. VOP. ONKOL., 1967, 13 (4) : 58/62.

139 - GIAMMONA (S.T.), TOCCI (P.), WEBB (W.R.) : Effects of cigarette smoke on incorporation of radioisotopically labeled palmitic acid into pulmonary surfactant and on surface activity of canine lung extracts. AMER. REV. RESP. DIS., 1971, 104 : 358/67.

140 - GIUSTI (C.), NICOLETTI (G.), GUERINI (C.) : Il comportamento di diversi indici spirografici, in condizioni normali, sotto l'influenza della nicotina. G. CLIN. MED., 1960, 41 : 76/84.

141 - GREEN (G.M.) : The response of the alveolar macrophage system to host and environmental changes. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1969, 18 : 548/50.

142 - GREEN (G.M.), CAROLIN (D.) : The depressant effect of cigarette smoke on the in vitro antibacterial activity of alveolar macrophages. NEW. ENG. J. MED., 1967, 276 : 421/7.

143 - GREENBERG (S.D.), HALLMAN (G.L.) : Changes in respiratory epithelium induced by single large application of tobacco tar : an experimental study in dogs. SOUTHERN MED. J., 1964, 57 : 417/22.

144 - GROB (K.) : Untersuchungen uber die Anwendfarkeit der Gaschromatograph. In : Alkylierend Wirkende Verbindungen. Erste Konferenz über N-Nitroso-Verbindungen und Lactone. Hambourg, September 1963. WISSENSCHAFTLICHE FORSCHUNGSSTELLE IM VERBAND DER CIGARETTENINDUSTRIE, 1964, p. 95/9.

145 - GUERIN (M.) : Tumeurs pulmonaires et cancer buccal chez le rat soumis à l'inhalation de fumée de cigarette. BULL. ASS. FRANC. CANCER, 1959, 46 : 295/309.

146 - GUERIN (M.) : Tumeurs spontanées des animaux de laboratoire (souris, rat,poule)., 1954, LEGRAND, PARIS.

147 - GUERIN (M.) : Etude sur le pouvoir co-carcinogène du goudron de fumée de cigarette. BULL. ASS. FRANC. CANCER, 1961, 48 : 365/76.

148 - GUERIN (M.), CUZIN (J.L.) : Action carcinogène du goudron de fumée de cigarette sur la peau de souris. BULL. ASS. FRANC. CANCER, 1957, 44 : 387/408.

149 - GUERIN (M.), CUZIN (J.L.) : Cancérisation cutanée de la souris par le goudron de fumée de cigarette. Nouvelles recherches. BULL. ASS. FRANC. CANCER, 1958, 45 : 400/16.

150 - GUILLERM (R.), BADRE (R.), HEE (J.) : Effets de l'hydroquinone et de la benzoquinone sur l'activité ciliaire de la muqueuse trachéale du rat in vitro. C.R. ACAD. SC. (D), (Paris), 1968, 266 : 528/30.

151 - GUILLERM (R.), BADRE (R.), VIGNON (B.) : Effets inhibiteurs de la fumée de tabac sur l'activité ciliaire de l'épithélium respiratoire et nature des composants responsables. BULL. ACAD. NAT. MED. (Paris), 1961, 145 : 416/23.

152 - GUILLERM (R.), BADRE (R.), HEE (J.), PIBAROT (R.) : Une nouvelle méthode de mesure de l'activité ciliaire : la photoscillographie. J. PHYSIOL. (Paris), 1965, 57 : 5, 725.

153 - GUILLERM (R.), BADRE (R.), HEE (J.), PASTORE (R.) : Effet de la température,de la PO_2 et de la PCO_2 sur l'activité ciliaire de la trachée de mouton in vitro. J. PHISIOL., 1966, 58 : n° 2 : 228/9.

154 - GUILLERM (R.), HEE (J.) : L'activité ciliaire de l'épithélium trachéo-bronchique. REV. FRANC. ALLERG., 1966, 5 : 275/8.

155 - GUILLERM (R.), SAINDELLE (A.), FALTOT (P.), HEE (J.) : Action de la fumée de cigarette et de quelques-uns de ses constituants sur les résistances ventilatoires chez le cobaye. ARCH. INT. PHARMACODYN, 1967, 167 : 101/14.

156 - GUTHRIE (F.E.), BOWERY (I.G.) : Pesticide residues in tobacco. RESIDUE REV., 1966, 19 : 31/56.

157 - HAAG (H.B.), LARSON (P.S.), WEATHERBY (J.H.) : Cardiovascular

effets of nicotine and smoking. Part. VI. Other aspects of the pharmacology of nicotine and smoking. The effect on rats of chronic exposure to cigarette smoke. ANN. N.Y. ACAD. SCI., 1960, 227/38.

158 - HALDANE (J.S.) : The relation of the action of carbon oxide to oxygen tension. J. PHYSIOL., 1895, 18 : 201/18.

159 - HALLET (W.Y.), DUARTE (J.) : Effect of ozone and cigarette smoke on lung function. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1965, 10 : 295/302.

160 - HAMMOND (E.C.) : Smoking in relation to the death rates of 1 million men and women. In : Haenszel, W., Epidemiological approaches to the Study of cancer and other chronic diseases. BETHESDA, U.S. PUBLIC HEALTH SERVICE, NAT. CANCER INST. MONOGR., 1966, 19, pp. 127/204.

161 - HAMMOND (E.C.) : Life expectancy of American men in relation to their smoking habits. Presented at the World Conference on Smoking and Health, New-York City, September 11-13, 1967, 23 pp.

162 - HAMMOND (E.C.), AUERBACH (O.), KIRMAN (D.), GARFINKEL (L.) : Effects of cigarette smoking on dogs. I. Desing of experiment, mortality and findings in lung parenchyma. ARCH. ENVIRON. HEALTH 1970, 21 : 740/53.

163 - HAMMOND (E.C.), HORN (D.) : Smoking and death rates - report on forty-four mouths of follow - up of 187,783 men. I. Total mortality. J.A.M.A., 1958, 166 : 1159/72.

164 - HAMMOND (E.C.), HORN (D.) : Smoking and death rates - report on forty-four mouths of follow - up of 187,783 men. II. Death rates by cause. J.A.M.A., 1958, 166 : 1294/308.

165 - HARRIS (R.J.C.), NEGRONI (G.) : Production of Lung Carcinomas in C57 BL Mice exposed to a cigarette smoke and Air Mixture. BRIT. MED. J., 1967, 4 : 637/41.

166 - HARRIS (J.O.), SWENSON (E.W.), JOHNSON (J.E.) : Human alveolar macrophages : comparison of phagocytic ability, glucose utilization and ultrastructure in smokers and non smokers. J. CLIN. INVEST., 1970, 40 : 2086/96.

167 - HERNANDEZ (J.A.), ANDERSON (A.E.), HOLMES (W.L.), FORAKER (A.G.) Pulmonary parenchymal defects in dogs following prolonged cigarette smoke exposure. AMER. REV. DIS., 1966, 93 : 78/83.

168 - HERROLD (K.) : The effects of benzo(a)pyrene, cigarette smoke condensate and atmospheric pollutants on the respiratory system of Syrian hamsters. ACTA UN. INT. CANCR., 1963, 19 : 710/4.

169 - HERROLD (K.M.), DUNHAM (L.J.) : Induction of carcinoma and papilloma of the tracheobronchial mucosa of the Syrian hamster by intratracheal instillation of benzo(a)pyrene. J. NAT. CANCER INST., 1962, 28 : 467/91.

170 - HILDING (A.C.) : On cigarette smoking, bronchial carcinoma and ciliary action. I. Smoking habits and measurement of smoke in take. NEW. ENG. J. MED., 1956, 254 : 775/81.

171 - HILDING (A.C.) : On cigarette smoking, bronchial carcinoma and ciliary action. II. Experimental study on the filtering action of cow's lungs, the deposition of tar in the bronchial tree and removal by ciliary action. NEW. ENG. J. MED., 1956, 254 : 1155/60.

172 - HILDING (A.C.) : Cigarette smoke and the physiologic drainage of the bronchial tree. DIS. CHEST., 1961, 39 : 357/62.

173 - HILDING (A.C.) : Phagocytosis, mucous flow, and ciliary action. ARCH. ENVIRON. HEALTH (CHICAGO), 1963, 6 : 61/73.

174 - HOFFMANN (D.), WYNDER (E.L.) : The tumor initiator in tobacco-smoke. PROC. AM. ASS. CANCER RES., 1966, 7 : 32.

175 - HOFFMANN (D.), WYNDER (E.L.) : Selective reduction of the tumorigenicity of tobacco smoke. Experimental approaches. In : WYNDER (E.L.), HOFFMANN (D.) editors, Toward a less harmful cigarette. BETHESDA, U.S. PUBLIC HEALTH SERVICE, NAT. CANCER INST. MONOGR., June 1968, 28.

176 - HOFFMANN (D.), WYNDER (E.L.) : Model studies on the reduction of tobacco smoke tumorogenicity. PROC. AM. ASS. CANCER RES., 1967, 8 : 30.

177 - HOFFMANN (D.), WYNDER (E.L.) : The reduction of the tumorigenicity of cigarette smoke condensate by addition of sodium nitrate to tobacco. CANCER RES., 1967, 27 : 172/4.

178 - HOLLAND (R.H.), ACEVEDO (A.R.), CLARK (D.A.) : The arsenic content of bronchial mucosa and submucosa in man. A comparison of specimens from lung cancer victims and control tissue. BRIT. J. CANCER, 1960, 14 : 169.

179 - HOLLAND (R.H.), KOZLOWSKI (E.J.), BOOKER (L.) : The effect of cigarette smoke on the respiratory system of the rabbit. CANCER, 1963, 16 : 612/5.

180 - HOLLAND (R.H.), WILSON (R.H.), ACEVEDO (A.R.), Mc CALL (M.S.), CLARK (D.A.), LANZ (H.C.) : A study of arsenic in regularsised infiltered and filtered cigarettes. CANCER, (PHILA), 1958, 11 : 1113/8.

181 - HOLLAND (R.H.), WILSON (R.H.), CLARK (T.A.), LANZ (H.C.) : A study of the uptake, distribution and absorption rate of inhaled arsenic (As 74). J. LABORAT. CLIN. M., 1958, 52 : 822.

182 - HOLLAND (R.H.), WILSON (R.H.), MORRIS (D.), Mc CALL (M.S.), LANZ (H.) : The effect of cigarette smoke on the respiratory system of the rabbit. A preliminary report. CANCER (PHILA.), 1958, 11 : 709/18.

183 - HOLMA (B.) : The acute effect of cigarette smoke on the initial course of lung clearance in rabbits. ARCH. ENVIRON HEALTH, 1969, 18 : 171/3.

184 - HOLTZMAN (R.B.) : Polonium-210 in bronchial epithélium of cigarettesmokers. SCIENCE, 1967, 155 : 607.

185 - HOLTZMAN (R.B.), ILCEWICZ (F.H.) : Lead-210 and polonium-210 in tissues of cigarette smokers. SCIENCE, 1966, 153 : 1259/60.

186 - HORTON (A.W.), TYE (R.), STEMMER (K.L.) : Experimental carcinogenesis of gaseous formaldehyde or an aerosol of coal tar by C3H mice. J. NAT. CANCER INST., 1963, 30 : 31/43.

187 - HOU, WILLIS (1963) cités par WYNDER (EL.), HOFFMANN (D.) : Tobacco and tobacco smoke. Studies in experimental carcinogenesis - 1 vol., ACADEMIC PRESS (NEW-YORK), 1967, 730 p.

188 - ITO (H.), AVIADO (D.M.) : Pulmonary emphysema and cigarette smoke. ARCH.ENVIRON. HEALTH, 1968, 16 : 865/70.

189 - IZARD (C.), LACHARPAGNE (J.) : Observations relatives aux effets de la phase gazeuse dela fumée de cigarette sur la motilité de Dunaliella Bioculata Butcher, (souche A-1). C.R. ACAD. SC., D, (Paris), 1967, 264 : 47/9.

190 - IZARD (C.), MOREE-TESTA (P.), LACHARPAGNE (J.) : Effets des condensats de fumée de cigarette sur la motilité de Dunaliella Bioculata Butcher. C.R. ACAD. SC. D, (Paris), 1967, 264 : 2379/81.

191 - JACOBI (U.) : Die natürliche Strahleneinwirkung auf den Atemtrakt., RADIOPHYSIK, 1965, 2 : 282/300.

193 - JARVIS (E.) : Tobacco smoking in monkeys. Ann. N.Y. ACAD. SC., 19 , 142 : 280/94.

193 - JOHNSON (D.E.), MILLAR (J.L.), RHOADES (J.W.) : Nitrosa-

mines in tobacco smoke : In : WYNDER (EL.), HOFFMANN (D.), editors. Toward a less harmful cigarette. BETHESDA, U.S. PUBLIC HEALTH SERVICE, NAT. CANCER INST. MONOGR., June 1968, 280.

194 - JUBB (K.V.F.), KENNEDY (P.C.) : Pathology of Domestic Animals. NEW-YORK, ACADEMIC PRESS INC., 1963, 1vol.

195 - KAMINSKI (E.J.), FANCHER (O.E.), CALANDRA (J.C.) : In vivo studies of the ciliostatic effects of tobacco smoke. Absorption of ciliastatic components by wet surfaces. ARCH ENVIRON HEALTH, 1968, 16 : 88/93.

196 - KEITH (C.H.), TESH (J.) : Measurement of the total issuing from a burning cigarette. TOBACCO SCI., 1965, 9 : 61/4.

197 - KENNAWAY (E.), LINDSEY (A.J.) : Some possible exogenous factors in the causation of lung cancer. BRIT. MED. BULL., 1958, 14 : 124/31.

198 - KENSLER (C.J.), BATTISTA (S.P.) : Components of cigarette smoke with ciliary depressant activity : their selective removal by filters containing activated charcoal granules. NEW ENG. J. MED., 1963, 269 : 1161/6.

199 - KENSLER (C.J.), BATTISTA (S.), LITTLE (A.D.) : Inhibition of mammalian ciliary transport activity by gases and aerosols with special reference to duration of action. FED. PROC., 1964, 23/105.

200 - KENSLER (C.J.), BATTISTA (S.P.) : Chemical and physical factors affecting mammalian ciliary activity. AMER. REV. RESP. DIS., 1966, 93 : 93/102.

201 - KIEN (G.A.), SHERROD (T.R.) : Cardiovascular effects of nicotine and smoking. Part. IV. Action of nicotine and smoking on coronary circulation and myocardial oxygen utilization. ANN. N.Y. ACAD. SCI., 1960, 90 : 161/73.

202 - KINKEL (H.J.) : Inhalation and toxicity studies. J. SOC. COSMETIC. CHEM., 1964, 15 : 395/409.

203 - KLEIN (U.) : Tierexperimentelle Lungengewebsveränderungen durch tabakrauchkondensat. BEITR. TABAKFORSCH., 1962, 5 : 180/5.

204 - KOLBERG (J.) : The effects of tobacco smoke on oxygen uptake. BIOS., 1959, 30 : 212/6.

205 - KOMCZYNSKI (L.) : Morphological changes in the organs of mice under the influence of tobacco smoke (in Polish).

206 - KOTIN (P.), FALK (H.) : The deposition of carcinogen-bearing particulate matter in the tracheo-bronchial tree in relation to particle size and effects of air pollutants and tobacco smoke on ciliary activity and mucus secretion of the respiratory system. PROC. AM. ASS. CANCER RES., 1956, 2 : 127.

207 - KOTIN (P.), FALK (H.L.) : The role and action of environmental agents in the pathogenesis of lung cancer. II. Cigarette smoke. CANCER, 1960, 13 : 250/62.

208 - KOUPERNIK (C.), GUILLERM (R.), KAUFMANN (H.) : Le Tabac-Problèmes physiopathologiques. LES CAHIERS SANDOZ 1969, 15 : 79 p.

209 - KOURILSKY (R.), HAPPERT (J.L.) : Comparaisons entre le cancer bronchopulmonaire provoqué chez la souris par le goudron de la fumée de cigarette et le cancer humain. BULL. CANCER (Paris), 1964, 51 : 243/68.

210 - KOURILSKY (R.), HAPPERT (J.C.), FREDY (D.) : Données expérimentales sur l'action cancérigène bronchopulmonaire du tabac. BRONCHES, 1966, 16 (5) : 370/81.

211 - KROLLER (E.) : Unetrsuchungen zum nachweis von nitrosaminen in Tabakrauch und lebensmitteln. DEUTSCHE LEBENSMITTEL-RUNDSCHAU, 1967, 63 : 303/5.

212 - KRUEGER (A.P.), SMITH (R.F.) : Effects of gaseous ions on tracheal ciliary rate. PROC. SOC. EXP. BIOL. MED., 1958, 98 : 412/4.

213 - KUSCHNER (M.) : The causes of lung cancer. AMER. REV. RESP. DIS., 1968, 98 : 573/90.

214 - KYLE (J.L.), RIESEN (W.H.) : Stress and cigarette smoke effects on lung mitochondrial phosphorylation. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1970, 21 : 492/7.

215 - LABELLE (C.W.), BEVILACQUA (D.M.), BRIEGER (H.) : The influence of cigarette smoke on lung clearance. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1966, 12 : 588/96.

216 - LABELLE (C.W.), BRIEGER (H.) : The fate of inhaled particles in the early postexposure period. II. The role of pulmonary phagocytosis. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1960, 1 : 423/7.

217 - LAMB (D.), REID (L.), LYNNE (R.) : Globlet cell increase in rat bronchial epithelium after exposure to cigarette and cigar tobacco smoke. BRIT. MED. J., 1969, 1 : 33/5.

218 - LARSON (R.K.),: The chronic effect of cigarette smoking on ventilatory function. CLIN. RES., 1963, 11 : 117.

219 - LARSON (R.K.) : The chronic effect of cigarette smoking on pulmonary ventilation. AMER. REV. RESP. DIS., 1963, 88 : 630/5.

220 - LARSON (R.K.), MURRAY (J.F.) : Effect of nicotine on the pulmonary circulation of the dog. CLIN. RES., 1963, 11 : 89.

221 - LARSON (R.K.), FURUKA (P.), MURRAY (J.F.) : Systemic and pulmonary vascular effects of nicotine in anesthetized dogs. AMER. REV. RESP. DIS., 1965, 91 : 556/64.

222 - LARSON (P.S.), HAAG (H.B.), SILVETTE (H.) : Tobacco - Experimental and clinical studies - 1 vol. The Williams and Wilkins company Edit., Baltimore, 1961, 932 p.

223 - LARSON (P.S.), SILVETTE (H.) : Tobacco Experimental and clinical studies. Supplement I. THE WILLIAMS AND WILKINS COMPANY EDIT., Baltimore, 1968, 803 p.

224 - LASNITZKI (I.) : The effect of 3,4 benzopyrene on human foetal lung grown in vitro. BRIT. J. CANCER, 1956, 10 : 510/6.

225 - LASNITZKI (I.) : Observations on the effects of condensates from cigarette smoke on human foetal lung in vitro. BRIT. J. CANCER, 1958, 12 : 547/52.

226 - LASNITZKI (I.) : Effects of cigarette smoke condensate on mouse tracheal epithelium in organ culture. BRIT. EMP. CANCER CAMPAIGN ANN. REP., 1964, 42 : 375/6.

227 - LASNITZKI (I.) : The effect of a hydrocarbon-enriched fraction of cigarette smoke condensate on human foetal lung grown in vitro. CANCER RES., 1968, 28 : 510/6.

228 - LATARJET (R.), COZIN (J.L.), HUBERT-HARBART (M.), MUEL (B.) ROYER (J.) : Détection quantitative du 3,4 benzopyrène formé par combustion du papier à cigarette et du tabac. BULL. CANCER (PARIS), 1956, 43 : 180/98.

229 - LAURENZI (G.A.), GUARNER (J.J.) : Effects of bacteria and viruses on ciliated epithelium. A study of the mechanisms

of bacterial clearance to ciliary and alveolar macrophage function. AMER. REV. RESP. DIS., 1966, 93 (pt. 2) : 134/41.

230 - LAURENZI (G.A.), GUARNERI (J.J.), CAREY (J.P.), ENDRIGA (R.B.) : Bacterial clearance from the lungs of mice. FED. PROC., 1963, 22 (2) : 565.

231 - LAURENZI (G.A.), GUARNERI (J.J.), ENDRIGA (R.B.), CAREY (J.P.) : Clearance of bacteria by the lower respiratory tract. SCIENCE, 1963, 142 : 1572/3.

231 - LAURENZI (G.A.), GUARNERI (J.J.), ENDRIGA (R.B.) : Important determinants in pulmonary resistance to bacterial infection. MED. THORAC., 1965, 22 : 48/59.

233 - LAZAR (P.), CHOUROULINKOV (I.), LIEBERMANN (C.), GUERIN (M.) Benzo (a) pyrene content and carcinogenicity of cigarette smoke condensate. J. NAT. CANCER INST. (WASHINGTON), 1966, 37 : 573/9.

234 - LEUCHTENBERGER (C.), LEUCHTENBERGER (R.) : The role of influenza virus in the development of malignant transformation in vitro and in the respiratory tract of mice, with and with out exposure to cigarette smoke. In : Lung Tumours in Animals. PROCEEDING OF THE THIRD QUADRENNIAL INTERNATIONAL CONFERENCE ON CANCER HELD AT THE UNIVERSITY OF PERUGIA, DIVISION OF CANCER RESEARCH, JUNE 24-29, 1965, p. 445/60.

235 - LEUCHTENBERGER (C.), LEUCHTENBERGER (R.) : Kumulative wirkung von zigarettenrauch-inhalation und influenza - virus - infektion bei der entsehung von atypischen proliferationen im bronchialepithel von mausen. ONCOLOGIA, 1965, 19 : 81/104.

236 - LEUCHTENBERGER (C.), LEUCHTENBERGER (R.) : Cytological and cytochemical effects of agents implicated in various pathological conditions : the effect of viruses and of cigarette smoke on the cell and its nucliec acids. INT. REV. CYTOL., 1963, 14 : 281/326.

237 - LEUCHTENBERGER (C.), LEUCHTENBERGER (R.) : Cytological and cytochemical effects on primary mouse kidney tissue and lung organ cultures after exposure to whole, fresh smoke and its gas phase from unfiltered, charcoal-filtered, and cigar tobacco cigarettes. CANCER RES., 1969, 29 : 862/72.

238 - LEUCHTENBERGER (C.), LEUCHTENBERGER (R.), DOOLIN (P.F.) : Quantitative determinations of nucleoproteins by microspectrophotometry and of dry mass by interference microspectrophotometry in bronchial and lung cells from mice exposed to cigarette smoke. PROC. AM. ASS. CANCER RES., 1957, 2 : 225.

239 - LEUCHTENBERGER (C.), LEUCHTENBERGER (R.), DOOLIN (P.F.) : A correlated histological, cytological and cytochemical study of the tracheobronchial tree and lungs of mice exposed to cigarette smoke. I. Bronchitis with atypical epithelial changes in mice exposed to cigarette smoke. CANCER (PHILA.), 1958, 11 : 490/506.

240 - LEUCHTENBERGER (C.), LEUCHTENBERGER (R.), ZEBRUN (W.), SHAFFER (P.) : A correlated histological, cytological and cytochemical study of the sequence of events in the bronchial epithelium from mice exposed to cigarette smoke. ACTA UN. INT. CANCR. , 1959, 15 - n° 3-4 : 632/8.

241 - LEUCHTENBERGER (C.), LEUCHTENBERGER (R.), ZEBRUN (W.), SHAFFER (P.) : A correlated histological, cytological and cytochemical study of the tracheobronchial tree and lungs of mice exposed to cigarette smoke. II. Varying responses of major bronchi to cigarette smoke, absence of bronchogenic carcinoma after prolonged exposure, and disappearance of bronchial lesions after cessation of exposure. CANCER, 1960, 13 : 721/32.

242 - LE TABAC - DOCUMENTS MIDY 1969, 74 : 39 p.

243 - LE TABAC - VIE MED. 1971, 25 : 2997/3017.

244 - LIPP (G.) : Zum problem vergleichender untersuchungen an porosen und perforierten cigaretten-papierein. BEITR. TABAKFORSCH, 1966, 3 : 477/83.

245 - LOCHNER (W.), MERCKER (H.), SCHURMEYER (E.) : Die wirkung vasoaktiver Pharmaka auf die Sauerstoffsättigung des Coronarsinusblutes. ARCH. EXP. PATH. PHARMAK., 1956, 227 : 373/82.

246 - LOHMANN (W.) : The presence of sulfur in cigarettes as determined by EPR studies. J. ARKANSAS MED., SOC., 1964, 61 : 99/101.

247 - LOOMIS (T.A.) : A broncho-constrictor factor in cigarette smoke. PROC. SOC. EXP. BIOL. MED., 1956, 92 : 337/40.

248 - LORENZ (E.), STEWART (H.L.), DANIEL (J.H.), NELSON (C.B.) : The effects of breathing tobacco smoke on strain a mice. CANCER RES., 1943, 3 : 123/4.

249 - LOVEJOY (F.W.) Jr, DAUTREBAND (L.) : New studies on aerosols. . Effexts of cigarette smoke on the airway conducta in smokers and non-smokers. ARCH. INT. PHARMACODYN., 1963, 143 : 258/67.

250 - LOWELL (F.C.), FRANKLIN (W.), MICHELSON (A.L.), SCHILLER (I.W.) : Chronic obstructive pulmonary emphysema : A disease of smokers. ANN. INTERN. MED., 1956, 45 : 268.

251 - LUPU (N.G.), VELICAN (C.) : La sclérose pulmonaire tabagique. PRESSE MED., 1957, 65 (n° 94), 2184/7.

252 - Mc DERMOTT (M.), COLLINS (M.M.) : Acute effects of smoking on lung airways resistance in normal and bronchitic-subjects. THORAX, 1965, 20 : 562/9.

253 - Mc LAUGHLIN (R.F.) Jr, TYLER (W.S.), CANADA (R.O.) : Subgross pulmonary anatomy in various mammals and man. J.A.M.A., 1961, 175 : 694/7.

254 - MAEDA (T.) : On the mode of nicotine action upon the isolated tracheal muscle of rabbit and guinea-pig. FOLIA PHARMACOL. JAP., 1955, 51 : 28.

255 - MAEDA (T.) : The action of nicotine on the excised bronchi muscle of rabbit and guinea pig : influence of some autonomic nerve toxine on effect of nicotine. FOLIA PHARMACOL. JAP., 1955, 51 : 506/14.

256 - MAGEE (P.N.), BARNES (J.M.) : Carcinogenic nitroso compounds. ADV. CANCER RES., 1967, 10 : 163/246.

257 - MAHRBURG (S.) : Anatomo-pathological studies of lung tissu changes in mice after inhalation of tobacco smoke (In Polish). ANN. UNIV. CURIE-SLODOWSKA (MED.), 1958, 13 : 35/46.

258 - MASSARO (D.) : Alveolar macrophages : cell free protein synthesis. AMER. REV. RESP. DIS., 1969, 100 : 249/51.

259 - MASSARO (D.), HANDLER (A.), BOTTOMS (L.) : Alveolar cells protein synthesis. AMER. REV. RESP. DIS., 1967, 96 : 957.

260 - MAY (R.M.), BOUCHARD (J.) : Anomalies des mitoses consécutives à l'imprégnation de fragments de souriceaux par des goudrons de tabac. C.R. ACAD. SCI. (PARIS), 1960, 250 : 1569/71.

261 - MELLORS (R.C.) : Microscopic localization of tobacco smoke products in the respiratory tract of animals exposed to cigarette smoke. PROC. AM. ASS. CANCER RES., 1958, 2 : 325.

262 - MENDENHALL (W.L.), SHREEVE (K.) : The effect of cigarette smoke on tracheal cilia . J. PHARMACOL. EXP. THER., 1957, 60 :111.

263 - MENDENHALL (W.L.), SHREEVE (K.) : The effetct of tobacco smoke on ciliary action. J. PHARMACOL EXP. THER., 1940, 69: 295.

264 - MEYER (D.H.), CROSS (C.E.), IBRAHIM (A.B.), MUSTAFA (M.G.) : Nicotine effects on alveolar macrophage respiration and adenosine triphosphatase activity. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1971, 22 : 362/5.

265 - MILLER (J.E.) : Determination of the components of pipe tobacco and cigar smoke by means of a new smoking machine. PROCEEDING OF THE THIRD WORLD TOBACCO SCIENTIFIC CONGRESS, SALISBURY, SOUTHERN RHODESIA, 1963, Feb. 18-26, p. 584/95.

266 - MILLER (D.A.), BONDURANT (S.), BRATTON (J.), Mc ILROY (T.): Effects of in vivo cigarette smoke on the surface tension of extracts of rat lungs. J. LAB. CLIN. MED., 1960, 56 : 929.

267 - MILLER (D.), BONDURANT (S.) : Effects of cigarette smoke on the surface characteristics of lung extracts. AMER. REV. RESP. DIS., 1962, 85 : 692/6.

268 - MILLER (J.M.), SPROULL (B.J.) : Acute effects of inhalation of cigarette smoke on mechanical properties of the lungs. AMER. REV. RESP. DIS., 1966, 94 : 721/6.

269 - MITCHELL (R.S.), VINCENT (T.N.), FILLEY (G.F.) : Cigarette smoking, chronic bronchitis and emphysema. J.A.M.A., 1964, 188 : 132.

270 - MONLUX (W.S.) : Primary pulmonary neoplasms in domestic animals. SOUTHWEST VET., 1952, 6 : 131/3.

271 - MOORE (G.E.), BOCK (F.G.) : A summary of research techniques for investigating the cigarette smoking-lung cancer problem. SURGERY, 1956, 39 : 120/30.

272 - MOTLEY (H.L.), KUZMAN (W.J.) : Cigarette smoke. Its effects on pulmonary function measurements. CALIF. MED., 1958, 88 : 211/20.

273 - MUELBOCK (O.) : Carcinogene werking van sigarettenrook bij Muizen. NED. TSCHR. GENEESK, 1955, 99 : 2276/8.

274 - MUMPOWER (R.C.) et Coll. : Tobacco SCI., 1961, 5 : 31/5 cités par WYNDER et HOFFMANN (400).

275 - MUSTAPHA (M.G.), IBRAHIM (A.B.), LE (C.T.), CROSS (C.E.) :

Pulmonary alveolar macrophage. Demonstration of Na^{+}, K^{+}, Mg^{++}, AT Pase activity. LIFE SCI., 1969, 8 : 1343/51.

276 - MYRVIK (Q.N.), LEAKE (E.S.), FARISS (B.) : Studies on pulmonary alveolar macrophages from the normal rabbit. A technique to procure them in a high state of purity. J. IMMUN., 1961, 86 : 128/32.

277 - NADEL (J.A.), COMROE (J.H., Jr) : Acute effects of inhalation of cigarette smoke on airway conductance. J. APPL. PHYSIOL., 1961, 16 : 713/6.

278 - NADEL (J.A.), TIERNEY (D.F.), COMROE (J.H., Jr) : Effect of inhalation of cigarette smoke and broncho-active aerosols on airway conductance. FED. PROC., 1960, 19 : 378.

279 - NADEL (J.A.), WIDDICOMBE (J.G.) : Nervous control of the trachea and lower airways in dogs. FED. PROC., 1961, 20 (1) : 429.

280 - NEUKOMM (S.) : Recherches expérimentales sur le pouvoir cancérigène de la fumée du tabac et d'autres polluants de l'atmosphère. ONCOLOGIA, 1957, 10 : 157/56.

281 - NEUKOMM (S.), BONNET (J.) : Untersuchugen über kanzerogene Stoffe im Tabakrauch. STRAHLENTHERAPIE, 1957, 37 : 128/32.

282 - NEURATH (G.) : Tobacco products and smoke. General Report. BEITR. TABAKFORSCH., 1967, 4 : 1/17.

283 - NEURATH (G.) : Entstehung, zusammensetzung und beeinflussung des tabakrauches. NATURWISSENSCHAFTEN, 1967, 54 : 30/5.

284 - NEURATH (G.) : Zur Frage des Vorkommens von N-nitroso-verbindungen in Tabakrauch. EXPERIENTIA, 1967, 23 : 400/4.

285 - NEURATH (G.), EHMKE (H.) : Untersuchungen uber den nitratgehalt des tabaks. BEITR. TABAKFORSCH., 1964, 2 : 333/44.

286 - NEURATH (G.), HORSTMANN (H.) : Einfluss des Feuchtigkeitsgehaltes von cigaretten auf die Zusammensetzung des rauches und die glutzonentemperatur. BEITR. TAKAKFORSCH., 1963, 2 : 93/100.

287 - NEWMAN (R.H.), JONES (W.L.), JENKINS (R.W., Jr) : Automatic device for the evaluation of total mainstream cigarette smoke. ANAL. CHEM., 1969, 41 (n° 3) : 543/5.

288 - NEWSOME (J.R.), KEITH (C.H.) : Variation of the gas phase.

Composition within a burning cigarette. TOBACCO, 1965, 160 : 30/4.

289 - NEWSOME (J.R.), NORMAN (V.), KEITH (C.H.) : Vapor phase analysis of tobacco smoke. TOBACCO SCI., 1965, 9 : 102/10.

290 - NIELSEN (S.W.) : Comparative pathology of pulmonary diseases, in Liebow AA (ed.) : The lung, Monograph 8. INTERNATIONAL ACADEMY OF PATHOLOGY MONOGRAPHS, BALTIMORE, WILLIAMS & WILKINS Co, 1967, pp. 226/44.

291 - NIELSEN (S.W.), HORAVA (A.) : Primary pulmonary tumors of the dog : A report of 16 cases. J. AMER. VET. RES., 1960, 21 : 813/30.

292 - OBERLING (C.H.) : Le grave problème du cancer bronchique. PRESSE MED., 1954, 62 : 712/5.

293 - ORNSTON (D.G.) : Office study of cilia. ARCH. OTORALYNG. (CHICAGO), 1956, 44 : 19.

294 - OTTO (H.), (1963), cité par WYNDER (E.L.) et HOFFMANN (D.) : Tobacco and tobacco smoke, studies in experimental carcinogenesis. 1 vol. New-York. ACADEMIE PRESS., 1967, 730 p.

295 - PAILER (M.), KUHN (H.) : Kurzer bericht uber das vorkommen von nickel im zigarettenrauch. FACHLICHE METTEILUNGEN DER OSTERREICHISCHEN TABAKREGIE, 1963, 4 : 61/3.

296 - PALECEK (F.), AVIADO (D.M.) : Pulmonary effects of tobacco and related substances : II comparative effects of cigarette smoke; nicotine and histamine on the anesthetized cat. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1967, 15 : 194/203.

297 - PALECEK (F.), OSKOUI (M.), AVIADO (D.M.) : Pulmonary effects of tobacco and related substances. III. Inhibition of synthesis of histamine in various species. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1967, 15 : 204/13.

298 - PASSEY (R.D.) : Carcinegenicity of cigarette tars. BRIT. EMP. CANCER CAMPAIGN ANN. REPT., 1957, 35 : 65/6.

299 - PASSEY (R.D.), BERGEL (F.) and LEWIS (G.E.), ROE (E.M.F.) and MIDDLETON (F.C.), BOYLAND (E.), PRATT (B.M.G.) and SIMS (J.), HIEGER (I.) : Cigarette smoking and cancer of the lung. BRIT. EMP. CANCER CAMPAIGN ANN. REPT., 1955, 33 : 59/61.

300 - PEACOCK (P.R.) : Experimental cigarette smoking by domestic

301 - PERRAUD (R.), CHAMEAUD (J.), LAFUMA (J.), MASSE (R.), CHRETIEN (J.) : Cancer bronchopulmonaire expérimental du rat par inhalation de radon. Comparaisons avec les aspects histologiques des cancers humains. J. FRANC. MED. CHIR. THORAC. (à paraître).

302 - PETERSON (D.I.), LONERGAN (L.H.), HARDINGE (M.G.) : Smoking and pulmonary function. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1968, 16 : 215/8.

303 - PRATT (S.A.), SMITH (M.H.), FINLEY (T.N.), LADMAN (A.J.) : Ultrastructure of alveolar macrophages obtained by endobronchial lavage of human smokers and non smokers. ANAT. REC., 1969, 163 : 245/6.

304 - PROETZ (A.) : Some preliminary experiments in the study of cigarette smoke and its effects upon the respiratory tract. ANN. OTOL., 1939, 48 : 1/6.

305 - PYBUS (R.J.), GOLDFARB (T.L.), JARVIK (M.E.) : A device for measuring cigarette smoking in monkeys. J. EXP. ANAL. BEHAV., 1969, 12 : 88/90.

306 - PYLEV (L.N.) : Induction of lung cancer in rats by intratracheal insufflation of cancerogenic hydrocarbons. ACTA UN. INT. CANCR., 1963, 19 : 688/91.

307 - QUINLAM (M.F.), SALMAN (S.D.), SWIFT (D.L.), WAGNER (H.N.) Jr PROCTOR (D.F.) : Measurement of mucociliary function in man. AMER. REV. RESP. DIS., 1969, 99 : 13/23.

308 - RADFORD (E.P., Jr) : Method for estimating respiratory surface area of mammalian lungs from their physical characteristics. PROC. SOC. EXP. BIOL. MED., 1954, 87 : 58.

309 - RADFORD (E.P.), HUNT (V.R.), LITTLE (J.B.) : Carcinogenicity of tobacco - smoke constituents. SCIENCE, 1969, 165 : 312/3.

310 - RAJEWSKY (B.), STAHLOHOFEN (W.) : Polonium-210 activity in the lungs of cigarette smokers. NATURE, 1966, 209, 1312/3.

311 - RAKIETEN (N.), RAKIETEN (M.L.), FELDMAN (D.), BOYKIN (M.J.) Mammalian ciliated respiratory epithelium. Studies with particular reference to effects of menthol, nicotine, and smoke of mentholated and nonmentholated cigarettes. A.M.A. ARCH. OTOLARYNG., 1952, 56 : 494/502.

312 - RAND (H.J.), CARDON (S.Z.), ALVORD (E.T.), BURHAM (A.) : A study of cigarette smoke and cigarette paper smoke alone. AM. J. SURG., 1957, 94 : 438/43.

313 - Report of the working group on inhalation carcinogenesis, with special reference to cigarette smoke. INT. J. CANCER, 1970, 5 : 282/5.

314 - RIGDON (R.H.) : Effect of tobacco condensate on respiratory tract of white Pekin ducks. ARCH. PATH. (CHICAGO), 1960, 69 : 55/63.

315 - ROBERTSON (D.G.), WARREL (D.A.), NEWTON-HOWES (J.S.), FLETCHER (C.M.) : Bronchial reactivity to cigarette and cigar smoke. BRIT. MED. J., 1969, 3 : 269/71.

316 - ROCKEY (E.E.), KUSCHNER (M.), KOSAK (A.I.), MAYER (E.) : The effect of tobacco on the bronchial mucosa of dogs. CANCER, (PHILA.), 1958, 11 : 466/72.

317 - ROCKEY (E.E.), SPEER (F.D.), AHN (K.J.), THOMPSON (S.A.), HIROSE (T.) : The effect of cigarette smoke condensate on the bronchial mucosa of dogs. CANCER, 1962, 15 : 1100/16.

318 - ROCKEY (E.E.), SPEER (F.D.) : The III effects of cigarette smoking in dogs. INT. SURG., 1966, 46 : 520/32.

319 - ROFFO (A.H.) : Unitad cancerigena de los alquitranes de diversos tipos de tabacos. BOL. INST. MED. EXP. ESTUD. CANCER B. AIR, 1938, 14 : 349/406.

320 - ROFFO (A.H.) : Unitad cancerigena de los alquitranes de diversos tipos de tabacos. PRENSA MED. ARGENT., 1939, 26 : 721/37.

321 - ROFFO (A.H.) : Unitad cancerigena de los alquitranes de diversos tipos de tabacos. REV. LIGA PUERTORRIQ. CANCER, 1943, 3 : 122/4.

322 - ROGERS et BLUMENTHAL, 1960, cités par BLACKLOCK (J.W.S.) : An experimental study of the pathological effects of cigarette condensate in the lungs with special reference to carcinogenesis. BRIT. J. CANCER, 1961, 15 : 745/62.

323 - ROSENBERG (B.), ALARIE (Y.), ROBILLARD (E.) : Effect of dust and aerosol inhalation on surface and tissue elasticity of rat lungs. CANAD. J. BIOCHEM. PHYSIOL., 1962, 40 : 1359/65.

324 - ROSENKRANZ (H.), SPRAGUE (R.) : Biochemical screen to investigate whole smoke and vapor phase effects in mice. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1969, 18 : 9[illegible]/24.

325 - RUCKER (K.), DONTENWILL (W.) : Tierexperimentelle unetrsuchugen uber die Beeinflussung der Atmung wahrend der inhalation von cigarettenrauch. BEITR. TABAKFORSCH., 1967, 4 : 40/4.

326 - RYLANDER (R.) : A photo-electric method for estimating the frequency of ciliary beat, procedings of the 14 th International Congress on Occupational Health, Madrid, Spain, 1963, Excerpta MED. INT. CONGRESS (Ser 62), p. 1426.

327 - RYLANDER (R.) : Current Techniques to measure alterations in the ciliary activity of intact respiratory epithelium. AMER. REV. RESP. DIS., 1966, suppl. 93 : 67/72.

328 - RYLANDER (R.) : Alterations of lung defense mechanisms against airborne bacteria. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1969, 18 : 551/5.

329 - SADOUL (P.), PHAM (Q.T.), FARZANEH (N.) : Retentissements fonctionnels respiratoires de la fumée de tabac, 1972 - A paraître.

330 - SAFFIOTTI (U.), CEFIS (F.), KOLB (L.H.) : A method for the experimental induction of bronchogenic carcinoma. CANCER RES., 1968, 28 : 104/13.

331 - SAINDELLE (A.), FLAVIAN (N.), GUILLERM (R.), HEE (J.) : Libération d'histamine par la fumée de cigarette et ses constituants. C.R. ACAD. SC. PARIS (D), 1967, 264 : 2926/8.

332 - SAINDELLE (A.), RUFF (F.), GUILLERM (R.), PARROT (J.L.) : Libération d'histamine par la fumée de cigarette et certains de ses constituants. REV. FRANC. ALLERG., 1968, 8 (n° 3) : 137/44.

333 - SAMANEK (M.), AVIADO (D.M.) : Bronchopulmonary effects of tobacco and related substances. II. Bronchial arterial injections of nicotine and histamine. ARCH. ENVIRON? HEALTH 196 , 11 : 152/9.

334 - SAMANEK (M.), AVIADO (D.M.), PESKIN (G.W.) : Bronchopulmonary effects of tobacco and related substances. III. Axon reflexes elicited from the visceral pleura. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1965, 11 : 160/6.

335 - SAMANEK (M.), AVIADO (D.M.) : Bronchopulmonary effects of tobacco and related substances. IV. Bronchial vascular and bronchomotor. Responses. their suggested defense function. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1965, 11 : 167/76.

336 - SASMOCO (S.A.) : Procédé pour la préparation d'un tabac débarrassé au moins partiellement des substances cancérigènes ainsi que des substances pouvant être transformées en de telles substances et tabac obtenu par ce procédé. SWISS PATENT, 1965, 387 : 518.

337 - SCHMAHL (D.), CONSBRUCH (U.), DRUCKREY (H.) : Fluoreszenzmessungen an Zigarettenrauch. ARZNEIMITTELFORSCHUNG, 1954, 4 : 71/5.

338 - SCHWARTZ (D.), DENOIX (P.F.) : L'enquête française sur l'étiologie du cancer broncho-pulmonaire. Rôle du tabac. SEM. HOP. PARIS, 1957, 5 (33è année) : 3630/43.

339 - SCHWARTZ (D.), DENOIX (P.F.), ANGUERA (G.) : Recherche des localisations du cancer associées aux facteurs tabac et alcool chez l'homme. BULL. ASS. FRANC. CANCER, 1957, 44 : 336/61.

340 - SEEHOFER (F.), HANSSEN (D.) : Die Kapillarpresse, eine rauch-maschine zur gewinnung von nativem rauchkondensat. I. Mitteilung. BEITR. TABAKFORSCH., 1964, 2 (6) : 303/10.

341 - SEEHOFER (F.), MILLER (J.E.) : Eine automatische schnellrauchmaschine fur serienanalysen und fur die praparative Gewinnung von rauchkondensaten. Teil 1. Automatische schnellrauchmaschine fur serienanalysen. BEITR. TABAKFORSCH 1965, 3 : 75/8.

342 - SERFONTEIN (W.J.), SMIT (J.H.) : Evidence for the occurence of N-nitrosamines in tobacco. NATURE, 1967, 214 : 169/70.

343 - SHABAD (L.M.) : Experimental cancer of the lung. J. NAT. CANCER INST., 1962, 28 : 1305.

344 - SHABAD (LM.M) : Experimental cancer of the lung. FED. PROC., 1963, 22 : 331/6.

345 - SHABAD (L.M.) : Review of attempts to induce lung cancer in experimental animals by tobacco smoke. CANCER, 1971, 27 : 51/5.

346 - SHABAD (L.M.), PYLEV (L.N.), [illegible] : Importance of the deposition of carcinogens for [illegible] induction in lung tissue. J. NAT. CANCER INT., [illegible] : 135/41

347 - SHAKHNOVSKIY (L.N.) : VLIYANIE DIAMETRA PAPIROS NA SOSTAV IX Dyma. TABAK, 1966, 1 : 20/1.

348 - SHAPIRO (W.), PATTERSON (J.L., Jr) : Effects of smoking and athletic conditioning on ventilatory mechanics, including observations on the reliability of the forced expirogram. AMER. REV. RESP. DIS., 1962, 85 : 191/9.

349 - SHORE (S.R.), AVIADO (D.) : Hormones and pulmonary effects of tobacco. II. Progesterone. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1969, 19 : 59/69.

350 - SIEGER (L.H.S.), ALTMAN (M.), ROBIN (E.D.) : Lactate dehydrogenase characteristics of rabbit alveolar and peritoneal macrophages. J. LAB. CLIN. MED., 1970, 75 : 721/8.

351 - SIMONSSON (B.) : Effect of cigarette smoking on the forced expiratory flow rate. AMER. REV. RESP. DIS., 1962, 85 : 534/9.

352 - SMITH (G.A.), SULLIVAN (P.J.), IRVINE (W.J.) : The determination of oxidisable nitrogen oxides present in cigarette smoke. ANALYST., 1967, 92 : 456/62.

353 - SPURGASH (A.), EHRLICH (R.), PETZOLD (R.) : Effect of cigarette smoke on resistance to respiratory infection. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1968, 16 : 385/91.

354 - STEDMAN (R.L.) : The chemical composition of tobacco and tobacco smoke. CHEM. REV., 1968, 68 : 152/207.

355 - STEDMAN (R.L.) : Nicotine reduction in tobacco and tobacco smoke. In : WYNDER (E.L.), HOFFMAN (D.), editors : Toward a les harmful cigarette. BETHESDA, U.S. PUBLIC HEALTH SERVICE, NAT. CANCER INST. MONOGR., June 1968, 28.

356 - STELZER (D.), HEINZE (K.) : Elektrische und thermoelektrische eigenschaften der glutzone von cigaretten. TABAK TECHNIKUM HAMBURG, 1963, 35 : 1/7.

357 - STEVENS (K.M.) : Lung cancer : an evolutionary approach. AUST. J. EXP. BIOL. MED. SCI., 1965, 43 : 421/8.

358 - STEWART (W.C.) : Weight-carrying capacity and excitability of excised ciliated epithelium. AMER. J. PHYSIOL., 1948, 152 : 1.

359 - SUNT [illegible] (V.), COWDRY (E.V.), [illegible] : Microscopic visualization of the degeneration of sebaceous glands caused by carcinogens. CANCER RES., 1955, 15 : 637/40.

360 - SUNTZEFF (V.), CRONINGER (A.) : Results of the sebaceous gland test of tobacco products and noncarnogenic polycyclic hydrocarbons. PROC. AM. ASS. CANCER RES., 1956, 2 : 152.

361 - SUNTZEFF (V.), CRONINGER (A.B.), WYNDER (E.L.), COWDRY (E.V.), GRAHAM (E.A.) : Use of sebaceous-gland test of primary cigarette-tar fractions and of certain noncarcinogenic polycyclic hydrocarbons. CANCER, 1957, 10 : 250/4.

362 - SWAIN (A.P.), COOPER (J.E.), STEDMAN (R.L.) : Large scale fractionation of cigarette smoke condensate for chemical and biologic investigations. CANCER RES., 1969, 29 : 579/83.

363 - TAKAYAMA (S.) : Carcinogenic effect of cigarette tar using newborn ICR MICE. GANN., 1970, 61 : 297/8.

364 - TESTA (P.) : Composition du condensat issu de cigarettes en tabac noir. Identification de deux cétones cycliques : 1-9, fluorenone, II - 1 indanone. ANNALES DE LA DIRECTION DES ETUDES ET DE L'EQUIPEMENT. SEITA. (1), 1966,(4) : 117/20.

365 - THAYER (P.S.), KENSLER (C.J.) : cigarette smoke : charcoal filters reduce components that inhibit growth of cultured human cells. SCIENCE, 1964, 146 : 642/4.

366 - TIPTON (D.L.), CROCKER (T.T.) : Duration of bronchial squamous metaplasia produced in dogs by cigarette smoke condensate. J. NAT. CANCER INST., 1965, 34 : 487/95.

367 - TODOROV (A.) : Détermination du goudron et de la nicotine dans 56 marques de cigarettes. MED. HYG., 1967, 25 (803) : 1334.

368 - TOUEY (G.P.) : Gaseous phase of cigarette smoke. Isolation and analysis for total aldehydes. ANAL. CHEM., 1955, 27 : 1788/90.

369 - TREIBER (H.), BENK (E.) : Eine automatische abrauchapparatur. DTSCH. LEBENSMITT. RDSCH., 1964, 60 : 322/3.

370a- TSO (T.C.) : The effect of farm production practices on nicotine and total particulate matter in cigarette smoke. IN : WYNDER (E.L.), HOFFMAN (D.), editors : Toward a less harmful cigarette. BETHESDA, U.S. PUBLIC HEALTH SERVICE, NAT. CANCER INST. MONOGR., June 1968, 94.

370b- TSO (T.C.), HARLEY (N.), ALEXANDER (L.T.) : Source of lead-210 and polonium-210 in tobacco. SCIENCE, 1966, 153 : 880/2.

371 - TUME (R.K.), DAY (A.[illegible]) : Cholesterol esterfying activity of rabbit alveolar macrophage. J. RETICULOENDOTHEL. SOC., 1970, 7 : 338/54.

372 - TURNER (R.C.), RADLEY (J.M.) : Naturally occurring alpha activity of cigarette tobaccos. LANCET, 1960, 1 : 1197/8.

373 - U.S. PUBLIC HEALTH SERVICE : The Health Consecuences of smoking. A PUBLIC HEALTH SERVICE REVIEW : 1968. SUPPLEMENT TO THE 1967, PUBLIC HEALTH SERVICE - WASHINGTON, U.S. DEPARTMENT OF HEALTH, EDUCATION AND WELFARE, PUBLIC HEALTH. SERVICE PUBLICATION Nº 1696, 1968, 117 pp.

374 - U.S. PUBLIC HEALTH SERVICE NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS : Mortality from diseases associated with smoking. UNITED STATES, 1950, 64 - WASHINGTON, U.S. DEPARTMENT OF HEALTH, EDUCATION,AND WELFARE, VITAL AND HEALTH STATISTICS, SERIES 20, N.4, PUBLIC HEALTH SERVICE PUBLICATION Nº 1000, OCTOBER 1966, 45 pp.

375 - VAN DONGEN (K.), LEUSING (H.) : The action of opium - alkaloïds and expectorants on the ciliary movements in the air passages. ARCH. INT. PHARMACODYN, 1953, 93 : 261.

376 - VAN REE (J.H.L.), VAN DISHOECK (H.A.E.) : Some investigations on nasal ciliary activity. PRACT. OTORHINOLARYNG. (BASEL), 1962, 24 : 383.

377 - VOISIN (C.), MACQUET (V.), AERTS (C.), GERNEZ-RIEUX (C.) : Prélèvements de macrophages alvéolaires par voie bronchique. BRONCHES, 1964, 14 : 49/54.

378 - VOISIN (C.), TONNEL (A.B.), AERTS (C.), WATTEL (F.) : Le macrophage alvéolaire, son rôle dans la défense du tissu pulmonaire contre l'infection. BULL. PHYSIO-PATH-RESP., 1971, 7 : 775/808.

379 - VON AHN (B.) : The acute effect of tobacco - smoking and nicotine on the electrocardiogram - especially during induced hypoxia. A CLINICAL AND EXPERIMENTAL INVESTIGATION - UPPSALA, APPELBERGS BOKTRYCKERI AB, 1954, pp. 112.

380 - VON NEERGAARD (K.) : Neue Auffassungen über einen grund begriff der atemmechanik die Retrakbonskraft der Lunge, Abhangis von der oberblachenspannung in der Alveolen. Z. GES. EXP. MED., 1929, 66 : 373.

381 - WALKER (T.R.), KIEFER (J.E.) : ciliastatic components in the gas phase of cigarette smoke. SCIENCE, 1966, 153 : 1248/50.

382 - WARTMAN (W.B. Jr), COGBILL (E.C.), HARLOW (E.S.) : Determination of particulate matter in concentrated aerosols. Application to analysis of cigarette smoke. ANAL. CHEM., 1959, 31 : 1705/9.

383 - WATANABE (M.), KOBASHI (Y.) : Tabako kemuri seibun no beinsekiko ni kansuru kenkyu. I. gasukuromatogurafi ni yoru tabako kemurichu no itsusanka tanso oyobi tansangasu no teiryo. NIPPON SENABI KOSHA CHUO KENKYUSHU KENKYN HOKOKU, 1965, 107 :177/80.

384 - WEBB (W.R.), LOOK (W.A.), LANIUS (J.W.), SHAW (R.R.) : Cigarette smoke and surfactant. AMER. REV. RESP. DIS., 1967, 95 : 244/7.

385 - WEISS (W.), WEISS (W.A.) : The gas phase toxicity of cigarette smoke for paramecium. ARCH. ENVIRON. HEALTH, 1967, 14 : 682/6.

386 - WINDMAN (J.), REKIERKUNST (A.) : Nicotinamide adenine dinucleotide levels and Nadase activity in polymorphonuclear leucocytes, alveolar macrophages and erythrocytes of tuberculous Guinea pigs. AMER. REV. RESP. DIS., 1969; 100 : 245/8.

387 - WOLFF (W.A.), PURDOM (E.G.), ISENHOWER (J.A.) : Radioisotopes as tracers in cigarette smoke. FED. PROC., 1954, 13 : 324.

388 - WOLFF (W.A.), LUTTLE (J.G.), GODFREY (J.M.) : Radioautographic method for studying deposition of cigarette smoke in the dog lung. FED. PROC., 1954, 13 : 324.

389 - WRIGHT (G.), WYNDER (E.L.) : Further chemical studies of cigarette smoke condensate. PROC. AM. ASS. CANCER RES., 1956, 2 : 159.

390 - WYNDER (E.L.), GOODMAN (D.A.), HOFFMANN (D.) : ciliatoxic components in cigarette smoke. II. Carboxylic Acids and Aldehydes. CANCER, 1965, 18 : 505/9.

391 - WYNDER (E.L.), GOODMAN (D.A.), HOFFMANN (D.) : Ciliatoxic components in cigarette smoke. III. In vitro comparison of different smoke components. CANCER. 1965, 18 : 1652/8.

392 - WYNDER (E.L.), GRAHAM (E.A.), CROININGER (A.B.) : Experimental production of carcinoma with cigarette tar. CANCER RES., 1953, 13 : 855/64.

393 - WYNDER (E.L.), GRAHAM (E.A.), CRONINGER (A.B.) : Study on the experimental production of cancer with tobacco tar. PROC. AM. ASS. CANCER RES., 1953, 1 : 62/3.

394 - WYNDER (E.L.), GRAHAM (E.A.), CRONINGER (A.B.) : Experimental production of carcinoma with cigarette tar. II. Tests with different mouse strains. CANCER RES., 1955, 15 : 445/8.

395 - WYNDER (E.L.), HOFFMANN (D.) : Some practical aspects of the smoking. Cancer problem. NEW ENG. J. MED., 1960, 262 : 540/5.

396 - WYNDER (E.L.), HOFFMANN (D.) : Present status of laboratory studies on tobacco carcinogenesis. ACTA PATH. MICROBIOL. SCAND., 1961, 52 : 119/32.

397 - WYNDER (E.L.), HOFFMANN (D.) : Study of tobacco carcinogenesis. VIII. The role of the acidic fractions as promotors. CANCER, 1961, 14 : 1306/15.

398 - WYNDER (E.L.), HOFFMANN (D.) : Experimental aspects of tobacco carcinogenesis. DIS. CHEST., 1963, 44 : 337/44.

399 - WYNDER (E.L.), HOFFMANN (D.) : Reduction of tumorigenicity of cigarette smoke. JAMA, 1965, 192 : 89/94.

400 - WYNDER (E.L.), HOFFMANN (D.) : Tobacco and tobacco smoke. Studies in experimental carcinogenesis. 1 vol. NEW-YORK ACADEMIC PRESS, edit., New-York, 1967, 730 p.

401 - WYNDER (E.L.), HOFFMANN (D.) : Experimental tobacco carcinogenesis. SCIENCE, 1968, 162 : 862/71.

402 - WYNDER (E.L.), HOFFMANN (D.) : Carcinogenesis of tobacco. Smoke constituents. SCIENCE, 1969, 165 : 312/3.

403 - WYNDER (E.L.), HOFFMANN (D.) : The epidermis and the respiratory tract as bioassay systems in tobacco carcinogenesis BRIT. J. CANCER, 1970, 24 : 774/87.

404 - WYNDER (E.L.), KAISER (H.E.), GOODMAN (D.A.), HOFFMANN (D.) A method for determining ciliastatic components in cigaret smoke. CANCER, 1963, 16 : 1222/5.

405 - WYNDER (E.L.), LUPBERGER (A.), GRENER (C.) : Experimental production of cancer with cigarette tar : strain differences. BRIT. J. CANCER, 1956, 10 : 607/9.

406 - WYNDER (E.L.), TAGUCHI (K.), BADEN (V.), HOFFMANN (D.) : Effect of passive inhalation of cigarette smoke on the respiratory tract of mice and hamsters. PROC. AM. ASSOC. CANCER RES., 1966, 7 : 77.

407 - WYNDER (E.L.), WRIGHT (G.) : Studies on the identification of carcinogens in cigarette tar. PROC. AM. ASS. CANCER RES., 1956, 2 : 159.

408 - WYNDER (E.L.), WRIGHT (G.) : A study of tobacco carcinogenesis. I. The primary fractions. CANCER, 1957, 10 : 255/71.

409 - YAMAZAKI (M.), YANAGI (H.) : Chukotsu Kokuhaigo wariai to ryogiri tabako no maki no bussei, shuryu kemurichu no taru oyobi zenarukaroidoryo. NIPPON SENBAI KOSHA CHUO KENKYUSHO KENKYN HOKOKU, 1967, 109 : 143/7.

410 - YEAGER (H.) : Alveolar cells : depressant effect of cigarette smoke on protein synthesis. PROC. SOC. EXP. BIOL. MED., 1969, 131 : 247/50.

411 - ZIVY (P.) : Le tabac, son histoire et son bon usage. COLLECTION 10/18 - nº 270 - 1 vol. UNION GENERALE D'EDITION, PARIS, 1965, 312 p.

412 - ZIVY (P.) : Le pneumothorax spontané des fumeurs. Le poumon tabagique. Tabagisme alvéolaire et troubles métaboliques. REV. TUBERC. (Paris), 1970, 34 : 125/58.

413 - ZWI (S.), GOLDMAN (H.I.), LEVIN (A.) : Cigarette smoking and pulmonaru function in healthy young adults. AMER. REV. RESP. DIS., 1964, 89 : 73/81.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Le Recteur de l'Académie de PARIS

Robert MALLET.

VU

Le Doyen de la Faculté de Médecine

de CRETEIL

M. RAPIN;

VU

Le Président de Thèse